

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Medicina



**LINFOMA FOLICULAR Y SU
TRANSFORMACIÓN HISTOLÓGICA:
FACTORES PREDICTIVOS Y
CARACTERÍSTICAS GENERALES DE UNA
SERIE NACIONAL**

TESIS DOCTORAL

MIRIAM MÉNDEZ GARCÍA

MADRID 2017

MEMORIA DE TESIS DOCTORAL



LINFOMA FOLICULAR Y SU TRANSFORMACIÓN HISTOLÓGICA: FACTORES PREDICTIVOS Y CARACTERÍSTICAS GENERALES DE UNA SERIE NACIONAL

Presentada por
Míriam Méndez García
Para la obtención del grado de Doctor por la Universidad Autónoma de
Madrid

Directores de tesis:

Prof. Dr. Mariano Provencio Pulla
Dra. Margarita Sánchez-Beato Gómez

"La ciencia se compone de errores, que a su vez son los pasos hacia la verdad"
Julio Verne

"A lo que debemos aspirar, no es tanto a descubrir diferencias y semejanzas sino a descubrir la similitud oculta bajo aparentes discrepancias"
Jules Henri Poincaré

"Al ser conscientes del problema recibirá siempre una especie de dirección intuitiva sobre lo que debe hacer y sobre el punto donde debe ir. Tendrá el presentimiento de cuál será el siguiente paso. Siempre. La única ocasión en que esto no ocurre es cuando usted tiene en mente un problema equivocado"
James Redfield

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar me gustaría agradecer a mis dos directores de tesis la ayuda que me han proporcionado en todo este camino. Al Dr. Mariano Provencio por haber tenido fe en este proyecto y saber cómo estimularme para seguir adelante. A la Dra. Margarita Sánchez-Beato por su energía y empuje para que en cada momento de dificultad todo tuviese solución.

Me gustaría agradecer a Ana Royuela todos sus consejos y su inestimable ayuda a la hora de llevar cabo todo el análisis de esta tesis, pero más allá de eso, su paciencia, su sonrisa en todo momento, su dedicación y entusiasmo. Por apoyarme aunque a veces llegásemos a callejones sin salida.

Muchas gracias también a Julia González porque además de todo su trabajo ha sido quien ha mantenido siempre la ilusión. Gracias por creer que con ganas y esfuerzo todo podía salir adelante.

Gracias a todo el servicio de Oncología Médica de Puerta de Hierro porque cada uno se ha implicado en este trabajo a su forma. Cada vez que existía un paciente candidato, que había que obtener una muestra, que había que revisar una historia, todos y cada uno de vosotros os habéis acordado de mí y de este proyecto.

También me gustaría agradecer a todos los miembros del GOTEL por su inestimable ayuda. En cada reunión todos habéis seguido con ilusión los avances que íbamos consiguiendo. Pero además, pese a las dificultades iniciales, ninguno ha dejado de colaborar, de responder mails, de revisar historias, de buscar muestras. Este proyecto lleva un poco de cada hospital, de cada servicio, de cada médico.

Para acabar me gustaría reconocer el papel fundamental que ha tenido mi familia, las personas que desde hace años creen en mí y me apoyan.

A mi marido perdón por las ausencias y gracias por ser la calma cuando me vuelvo torbellino. A mi hija porque cada día intento ser mejor persona por ti. A mi hermano por recordarme que si sonríes a la vida esta te devuelve una sonrisa y que el optimismo nos hace fuertes. Pero especialmente me gustaría agradecer a mis padres por todo lo que han hecho, hacen y espero que sigan haciendo por mí. Por enseñarme que juntos no hay problema al que no nos podamos enfrentar y que la distancia no se mide en kilómetros porque siempre, siempre, estáis a mi lado.

Por eso esta tesis está especialmente dedicada a vosotros, mi pilar, mi familia.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS, GRÁFICOS Y TABLAS	11
ABREVIATURAS Y SIGLAS.....	15
RESUMEN	19
INTRODUCCIÓN	21
1. Linfoma folicular.....	23
Epidemiología	23
Hallazgos de anatomía patológica	23
Clínica	26
Diagnóstico y estadio	27
Pronóstico	28
Tratamiento	30
Estadio inicial	30
Estadio avanzado	31
Segunda línea de tratamiento.....	36
2. Transformación histológica	37
Antecedentes y estado actual del tema.....	37
Características clínicas y diagnósticas de la transformación histológica	41
Incidencia de transformación histológica	43
Tratamiento de la transformación histológica.....	49
Quimioterapia con radioterapia en enfermedad localizada	49
Esquemas de quimioterapia.....	49
Rituximab	49
Nuevos fármacos.....	52
Inmunoterapia	54
Trasplante autólogo	54
Trasplante alogénico	62
Radioinmunoconjugados.....	64
3. Alteraciones moleculares en el linfoma folicular y en la transformación histológica	67
Patogénesis del linfoma folicular	67
Expresión de BCL-2.....	67
Casos BCL-2 negativos.....	69
Otras lesiones genéticas.....	69
Microambiente tumoral	70
Patrones de transformación histológica	71
Alteraciones genéticas en la transformación.....	72
Microambiente tumoral en la transformación	80
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	83
MATERIAL Y MÉTODOS	87
1. Diseño del estudio	89
2. Población	89
Criterios de inclusión	89
Criterios de exclusión.....	89
3. Identificación de transformación histológica	90

4. Definición de las variables	90
Pacientes y características clínicas.....	90
5. Seguimiento clínico y valoración de repuesta	93
6. Diseño de recogida de datos	93
Cuaderno de recogida de datos (CRD)	94
7. Desarrollo del estudio.....	94
8. Análisis estadístico	95
Análisis descriptivo	95
Análisis univariante	95
Análisis multivariable	95
Análisis de supervivencia	96
Análisis de sensibilidad	96
9. Aspectos éticos.....	97
10. Alteraciones moleculares.....	98
Características de las muestras.....	98
Ultrasecuenciación o Deep-sequencing.....	98
Técnica de secuenciación.....	99
Análisis bioinformático	99
Validación de mutaciones con TruSeq Custom Amplicon.....	100

RESULTADOS 101

1. Características de la serie con linfoma folicular.....	103
2. Características de la serie con transformación	105
3. Factores de riesgo para transformación histológica	107
4. Supervivencias de ambas series	111
5. Supervivencia tras la transformación	112
6. Tasas y tiempo de transformación.....	113
7. Antecedentes de interés serie transformada	114
8. Características antes y tras transformación	115
9. Motivo para diagnóstico de transformación	121
10. Tratamientos en la serie con transformación	122
Tratamiento con quimioterapia o no.....	123
Esperar y ver	124
Trasplante autólogo	128
Radioterapia.....	130
Radioinmunoconjugados	132
Rituximab	134
11. Transformación precoz o tardía.....	140
12. Toxicidades y respuestas a los tratamientos de quimioterapia	141
13. Respuesta previa a la transformación.....	145
14. Estado de los pacientes.....	146
Características clínicas iniciales	147
Tratamientos recibidos	149
Características clínicas en la transformación	150
Supervivencia de ambas poblaciones	152

Estado actual de los enfermos	153
16. Factores pronósticos tras la transformación	154
17. Análisis molecular con/sin transformación	156
DISCUSIÓN.....	165
1. Validez de los datos	167
2. Características de la serie general	170
Características clínicas	170
Tratamiento	173
Supervivencia	174
3. Factores predictivos de transformación histológica	175
Características clínicas	175
Tratamientos iniciales	176
4. Tasas de transformación	178
5. Supervivencias de ambas series	180
6. Características de la serie con transformación	181
Antecedentes de interés	181
Características clínicas al inicio y tras la transformación histológica.....	184
Tratamientos de la serie con transformación histológica	186
Tratamiento con quimioterapia o no	187
“Esperar y ver” frente a otros tratamientos	188
Trasplante autólogo	189
Radioterapia	191
Radioinmunoconjugados.....	192
Rituximab	192
Transformación precoz frente a tardía	195
Toxicidades de los tratamientos de quimioterapia.....	195
Respuestas alcanzadas y progresión de la enfermedad	196
Respuesta previa a la transformación.....	197
Transformación clínica frente a transformación histológica	198
Características iniciales de los pacientes	198
Características clínicas en el momento de la transformación.....	199
Tratamientos recibidos	200
Supervivencias.....	200
7. Factores pronósticos tras transformación histológica	201
8. Análisis molecular de pacientes con linfoma folicular sin transformación frente a pacientes con transformación histológica	202
CONCLUSIONES.....	211
BIBLIOGRAFÍA	215

ANEXO I: CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS INICIALES	237
ANEXO II: CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS TRAS TRANSFORMACIÓN	241
ANEXO III: APROBACIÓN DE CEIC DE HUPHM	243
ANEXO IV: CONSENTIMIENTO INFORMADO	245
ANEXO V: GENES ESTUDIADOS	250
ANEXO VI: COMUNICACIONES A CONGRESOS.....	251

ÍNDICE DE FIGURAS, GRÁFICOS Y TABLAS

- Figura 1: Ganglio linfático con linfoma folicular
- Figura 2: Composición de ganglio linfático con linfoma folicular
- Figura 3: Mecanismo de acción de rituximab
- Figura 4: Mecanismo acción radioinmunoconjugados
- Figura 5: Curva de Kaplan-Meier de supervivencia en LF y LFt
- Figura 6: Curva de Kaplan-Meier de supervivencia tras TH
- Figura 7: Curva de SG en LBDCC
- Figura 8: Transformación en función de tiempo de seguimiento
- Figura 9: Incidencia acumulada de TH en el tiempo
- Figura 10: Motivos que han llevado al diagnóstico de TH
- Figura 11: Curva de Kaplan Meier según tratamiento de quimioterapia inicial
- Figura 12: Curva de Kaplan Meier de “esperar y ver” o tratamiento
- Figura 13: Curva de Kaplan Meier para pacientes trasplantados frente a no trasplantados
- Figura 14: Curva de Kaplan Meier en función del momento del trasplante respecto a la transformación
- Figura 15: Curva de Kaplan Meier para pacientes con radioterapia o no
- Figura 16: Curva de Kaplan Meier en función del momento de la radioterapia respecto a la transformación
- Figura 17: Curva de Kaplan Meier para pacientes con radioinmunoconjugados o no
- Figura 18: Curva de Kaplan Meier en función del momento de los radioinmunoconjugados respecto a la transformación
- Figura 19: Curva de Kaplan Meier para pacientes con rituximab o no
- Figura 20: Tratamiento sin R , con R antes o después de TH
- Figura 21: Curva de Kaplan Meier en función del momento del tratamiento con rituximab respecto a la transformación

- Figura 22: Curva de Kaplan Meier en función de R de mantenimiento o no
- Figura 23: Curva de Kaplan Meier en función de mantenimiento con R respecto a TH
- Figura 24: Curva de Kaplan Meier de pacientes con transformación antes o después de 6 meses de última dosis de rituximab
- Figura 25: Curva de Kaplan Meier de transformación antes o después de los 12 meses tras el linfoma folicular
- Figura 26: Toxicidades registradas en la primera línea de quimioterapia
- Figura 27: Toxicidades registradas en la segunda línea de quimioterapia
- Figura 28: Toxicidades registradas en la tercera línea de quimioterapia
- Figura 29: Toxicidades en función de las líneas de tratamiento
- Figura 30: Evolución de los pacientes en función a la línea de quimioterapia
- Figura 31: Curvas de Kaplan Meier en función del tipo de respuesta alcanzada previa a la TH
- Figura 32: Estado actual de los pacientes con linfoma transformado
- Figura 33: Estado actual de los pacientes con linfoma folicular sin transformación
- Figura 34: Curvas de Kaplan Meier de pacientes con y sin confirmación histológica de TH
- Figura 35: Estado de los pacientes con y sin confirmación histológica de TH
- Figura 36: Genes mutados frecuentemente en LFt y LFnt
- Figura 37: Genes con diferencia en el número de mutaciones en pacientes con TH frente a pacientes sin TH

- Gráfico 1: Algoritmo de tratamiento en la transformación histológica
- Gráfico 2: Patogénesis del linfoma folicular
- Gráfico 3: Las vías de transformación en el linfoma folicular
- Gráfico 4: Incidencia y mortalidad de linfoma no-Hodgkin en 2012
- Gráfico 5: Reguladores de la cromatina o modificadores epigenéticos

- Tabla 1: Clasificación por estadios de Ann-Arbor
- Tabla 2: Características clínicas FLIPI
- Tabla 3: Supervivencia en función de escala FLIPI
- Tabla 4: Características clínicas FLIPI2
- Tabla 5: Supervivencia en función de escala FLIPI2
- Tabla 6: Riesgo de transformación histológica y supervivencia
- Tabla 7: Principales estudios de trasplante autólogo
- Tabla 8: Principales estudios de trasplante alogénico
- Tabla 9: Principales estudios de radioinmunoconjugados
- Tabla 10: Características clínicas iniciales de ambas series (LF y LFt)
- Tabla 11: Tratamiento de ambas series (LF y LFt)
- Tabla 12: Estado actual de los pacientes con LF y LFt
- Tabla 13: Antecedentes personales de pacientes con TH
- Tabla 14: Características clínicas en LF y en TH
- Tabla 15: Diferencias en estadio al diagnóstico de LF y en LFt
- Tabla 16: Diferencias en valor de hemoglobina al diagnóstico de LF y en LFt
- Tabla 17: Diferencias en valor de LDH al diagnóstico de LF y en LFt
- Tabla 18: Diferencias en ECOG al diagnóstico de LF y en LFt
- Tabla 19: Diferencias en valor de Beta2 microglobulina al diagnóstico de LF y en LFt
- Tabla 20: Diferencias en síntomas B al diagnóstico de LF y en LFt
- Tabla 21: Diferencias en masa bulky al diagnóstico de LF y en LFt
- Tabla 22: Diferencias en afectación visceral al diagnóstico de LF y en LFt
- Tabla 23: Tratamientos administrados a los pacientes con TH
- Tabla 24: Características de los pacientes que reciben tratamiento inicial frente a los que se decide “esperar y ver”
- Tabla 25: Antecedentes personales de pacientes con confirmación histológica de TH
- Tabla 26: Características iniciales de pacientes con o sin confirmación histológica
- Tabla 27: Tratamientos recibidos en pacientes con y sin confirmación histológica

- Tabla 28: Características clínicas de TH en pacientes con y sin confirmación histológica
- Tabla 29: Estado de los pacientes con y sin confirmación histológica de TH
- Tabla 30: Características pronósticas en el momento de la transformación
- Tabla 31: Genes estudiados y mutaciones en LFt y LFnt
- Tabla 32: Genes más frecuentemente mutados LFt y LFnt
- Tabla 33: Frecuencia de mutaciones en la cohorte general y en LFnt y LFt
- Tabla 34: Índice pronóstico en base a genes mutados en transformados y no transformados
- Tabla 35: Pacientes transformados y no transformados en función de más o menos de 4 mutaciones
- Tabla 36: Sensibilidad, especificidad, valor predictivo negativo y positivo de índice pronóstico
- Tabla 37: Firma genética de pacientes con ≥ 4 mutaciones
- Tabla 38: Firma genética de los 22 pacientes transformados

ABREVIATURAS Y SIGLAS

ADN: ácido desoxirribonucleico
AID: activación inducida por ciclina deaminasa
ASCO: American Society of Clinical Oncology
BCL-2: leucemia/linfoma de célula B 2
BCL-6: leucemia/linfoma de célula B 6
Bx: biopsia
CDK: kinasa dependientes de ciclina
CEIC: Comité Ético de Investigación Clínica
COSMIC: catálogo de mutaciones somáticas en cáncer
CRD: cuaderno de recogida de datos
DHL: “double hit lymphoma”
EBMT: European Bone Marrow Transplant
ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group
ESHAP: etopósido, metilprednisona, ARA-C y cisplatino
FFPE: Formalin Fixed Paraffin Embedded
FLIPI: Índice Pronóstico Internacional de Linfoma Folicular
GELF: Groupe d’Etude des Lymphomes Folliculaires
GPD: gemcitabina, cisplatino y dexametasona
GVL: “graft versus lymphoma”
HUPHM: Hospital Universitario Puerta de Hierro de Majadahonda
IC: intervalo de confianza
ICE: ifosfamida, carboplatino, etopósido
Ig: inmunoglobulinas
IHC: inmunohistoquímica
IIS: Instituto de Investigación Sanitaria
ITL: infiltrado tumoral linfocitario
LB: linfoma Burkitt
LBDCG: linfoma B difuso de célula grande
LBDCG-ABC: linfoma B difuso de células grandes subtipo célula B activada
LBDCG-CG: linfoma B difuso de células grandes subtipo centro germinal

LCM: linfomas de células del manto
LDH: lactato deshidrogenasa
LDL: lipoproteína de baja densidad
LF: linfoma folicular
LFnt: linfoma folicular no transformado
LFt: linfoma folicular transformado
LLA: leucemia/linfoma linfoblástica aguda
LLC: leucemia linfática crónica
LLCP: linfoma linfocítico de células pequeñas
LNH: linfoma no-Hodgkin
MAT: macrófagos asociados al tumor
NF- κ B: factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas
NIH: National Institute of Health
NR: no alcanzada
OMS: Organización Mundial de la Salud
PCR: reacción en cadena de la polimerasa
PD-1: proteína de muerte celular programada 1
PET: tomografía por emisión de positrones
pRb: proteína del retinoblastoma
PRIMA: estudio de "Primary Rituximab and Maintenance"
QT: quimioterapia
R: Rituximab
R-B: Bendamustina con rituximab
RC: respuesta completa
R-CHOP: Ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina y prednisona con rituximab
R-CVP: Ciclofosfamida, vincristina y prednisona con rituximab
R-F: Fludarabina y rituximab
R-FMD: Fludarabina, mitoxantrone y prednisona con rituximab
RIC: radioinmunoconjugados
RIT: radioinmunoterapia
RMN: resonancia magnética nuclear
RP: respuesta parcial

R-QT: rituximab-quimioterapia
RT: radioterapia
SCE: supervivencia causa-específica
SG: supervivencia global
SLE: supervivencia libre de enfermedad
SLEv: supervivencia libre de evento
SLP: supervivencia libre de progresión
SNPs: single nucleotide polymorphisms
SUV: valores de captación estándar
T reg: células T reguladoras
TC: tomografía computarizada
TdT: dexosinuclotidil transferasa
TH: transformación histológica
TNF: factor de necrosis tumoral
TRG: tasa de respuesta global
VIH: virus de inmunodeficiencia humana

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

El linfoma folicular es una enfermedad de curso indolente mientras que la transformación histológica es un evento caracterizado por desarrollo de un linfoma más agresivo. Existe variabilidad en la incidencia de transformación histológica debido a las diferencias en las poblaciones estudiadas, la definición que de transformación histológica y el método diagnóstico utilizado. También existe variabilidad en los factores clínicos iniciales que podrían influir a la hora de desarrollar este proceso. Teniendo en cuenta que muchos de los estudios son previos al uso de rituximab queda por determinar qué factores están hoy en día influyendo en la supervivencia de estos pacientes. Por otra parte existen nuevas técnicas moleculares que intentan explicar los procesos iniciales que conducen a una transformación histológica. Se intentan detectar las alteraciones genéticas características así como las que podrían ayudarnos a predecirlo.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Deben existir factores clínicos y moleculares iniciales en el linfoma folicular predictivos de transformación histológica. Por tanto nuestro objetivos han sido, por un lado, determinar la incidencia de transformación histológica en una serie nacional en la era rituximab, así como definir factores clínicos y terapéuticos implicados en la aparición de este proceso. Por otro lado hemos estudiado las características moleculares que diferencian a los pacientes que sufren una transformación histológica a lo largo del seguimiento de los que no lo hacen.

MÉTODOS

Se ha realizado un estudio de cohortes prospectivo multicéntrico en 23 hospitales españoles. Se han incluido 975 pacientes diagnosticados de linfoma folicular a los que se ha seguido una mediana de 4,8 años. En el momento en que se reportaba una transformación histológica se solicitaba una muestra histológica para confirmación de la misma. Si no se disponía, debía de cumplir criterios clínicos para considerarlo como tal (aumento de lactato deshidrogenasa (LDH), crecimiento ganglionar rápido, deterioro del estado general, aparición de síntomas B, hipercalcemia o afectación de nuevas áreas ganglionares o extraganglionares).

También en ese momento se recogían datos clínicos concretos, terapias administradas y seguimiento. Posteriormente se ha llevado a cabo secuenciación masiva de las muestras y se ha comparado con muestras de pacientes con linfoma folicular de largo seguimiento que no sufrían transformación.

RESULTADOS

Existen factores clínicos al diagnóstico como aumento de LDH, FLIPI bajo-intermedio-alto, performance status o presencia de síntomas B que parecen predisponer a transformación histológica. En cuanto a las opciones terapéuticas iniciales, esperar y ver o no recibir tratamiento inicial con rituximab o antraciclinas son las decisiones terapéuticas más observadas en el grupo de transformación. La supervivencia de los pacientes con transformación es peor que los pacientes con linfoma folicular sin ella y la incidencia de transformación alcanza un plateau a los 14 años de seguimiento.

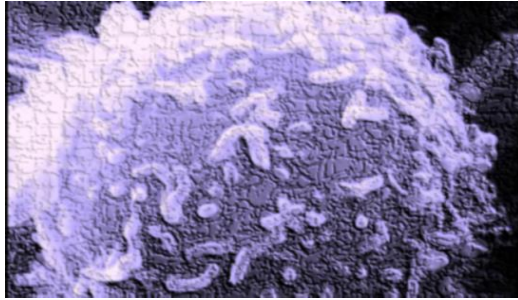
En cuanto a los tratamientos, parece que la evolución del enfermo varía en función del momento en el que reciben rituximab; hacerlo tras la transformación confería mejor pronóstico. También parece que el trasplante autólogo mejoraba la supervivencia. No existen diferencias importantes en cuanto a características clínicas, ni tratamientos ni evolución entre los pacientes con transformación confirmada histológicamente y en los que se sospechaba en base a criterios clínicos. Las características en el momento del diagnóstico de transformación que repercuten de forma negativa en la supervivencia de los pacientes son estadio IV y ECOG ≥ 2 .

En cuanto a las características moleculares, hemos encontrado que todos los pacientes que sufren transformación presentan más de 4 mutaciones en la muestra inicial de linfoma folicular. Además hemos recogido que existen 14 genes que se encuentran más frecuentemente mutados en pacientes que van a experimentar una transformación.

CONCLUSIONES

Existen factores clínicos y factores moleculares iniciales que parecen predisponer a la aparición de una transformación histológica. Las características clínicas en el momento de sufrir una transformación, así como el uso de los distintos tratamientos posibles tienen repercusiones en la supervivencia de los pacientes.

INTRODUCCIÓN



1. Linfoma folicular

El linfoma folicular (previamente llamado linfoma de centro folicular) es una entidad clínico-patológica heterogénea que incluye tumor derivado de células B de centro germinal, centrocitos y centroblastos. El linfoma folicular (LF) es el segundo subtipo de linfoma no-Hodgkin (LNH) más frecuente y representa el 22-25% de los LNH de acuerdo con la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Es el más frecuente entre los LNH indolentes, definidos como aquellos linfomas con supervivencias largas incluso sin tratamientos.

Epidemiología

La incidencia mundial exacta de LF no se conoce. En Estados Unidos la incidencia estimada es de 3,18 casos por 100.000 habitantes (Morton *et al*, 2006). La incidencia en Europa es de 2.18 casos por cada 100.000 personas al año (Sant *et al*, 2010). La incidencia permanece estable a lo largo del tiempo, pero varía según etnias con incidencia en raza blanca casi el doble que en raza negra o asiática (Biagi *et al*, 2002). No existe predilección por sexo. La incidencia aumenta con la edad; el LF es más frecuente en individuos de mediana edad o ancianos, con una media de edad al diagnóstico de 60 años (The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project, 1997). No suele ser diagnosticado en niños o adolescentes (Lorsbach *et al*, 2002).

Existen numerosos factores de riesgo propuestos pero muchos no han sido validados en estudios independientes. En algunos casos se ve cierta relación familiar (Conde *et al*, 2010).

Hallazgos de anatomía patológica

Uno de los hallazgos morfológicos característicos del LF es el crecimiento con patrón nodular similar a los centros germinales de los folículos linfoides. A diferencia de los nódulos linfoides normales, los del LF varían de forma y tamaño. También se ven artefactos alrededor de los folículos patológicos, presumiblemente porque estos folículos carecen de los elementos estromales normales que rodean a los folículos reactivos. Los folículos neoplásicos pueden estar presentes en todo el

tejido tumoral o solo en una parte. Al igual que en los centros germinales normales, las células T y las células dendríticas están presentes en los folículos malignos, sin embargo a diferencia de los folículos normales, están ausentes los macrófagos cargados con restos de linfocitos B que han muerto por apoptosis (Stein *et al*, 1982).

Los folículos están compuestos por células centrofoliculares, generalmente mezcla de centrocitos y centroblastos. Los centrocitos son células pequeñas hendidas con escaso citoplasma, ligeramente mayores a los linfocitos maduros y tienen núcleos irregulares, con hendiduras, la cromatina es grosera (la llamada cromatina en “sal y pimienta”) y los nucleolos pequeños y prominentes. El citoplasma se ve raras veces y las mitosis son escasas. Por otra parte, los centroblastos son células grandes, que pueden mostrar un núcleo vesicular, clivado-hendido o no, con diámetro 2-3 veces mayor al de un linfocito maduro. Tienen 2-3 nucleolos junto a la membrana nuclear, el citoplasma es escaso y basófilo y las mitosis pueden ser más frecuentes.

La clasificación OMS establece una subdivisión de los linfomas foliculares en tres categorías, siguiendo el criterio establecido por Mann y Berard (Mann *et al*, 1983), modificado por el grupo de patólogos del NCI (Jaffe *et al*, 1993) ; esto es, el recuento de células grandes (centroblastos) por campo de gran aumento:

- Grado 1: predominio de centrocitos con de 0 a 5 centroblastos por campo de gran aumento
- Grado 2: predominio de centrocitos con de 6 a 15 centroblastos por campo de gran aumento
- Grado 3: predominio de centroblastos; más de 15 por campo de gran aumento

El grado 3 se subdivide en 3A (centroblastos abundantes con presencia de centrocitos) y 3B (infiltrado compuesto enteramente por centroblastos e inmunoblastos, sin centrocitos). Esta subclasificación tiene interés pronóstico, en especial la separación de los grados 1 y 2 (curso indolente) de los grados 3 (curso más agresivo).

La fracción de Ki-67, un marcador de proliferación es más bajo que en los folículos reactivos. El número de células en mitosis aumenta con el grado.

El diagnóstico puede hacerse demostrando inmunofenotipo concordante (fenotipo de célula de centro germinal) y alteraciones genéticas (translocación 14;18).

Figura 1: Ganglio linfático con linfoma folicular. Fuente: Rubin et al. Patología estructural. 4ª ed. McGraw Hill Interamericana; 2006

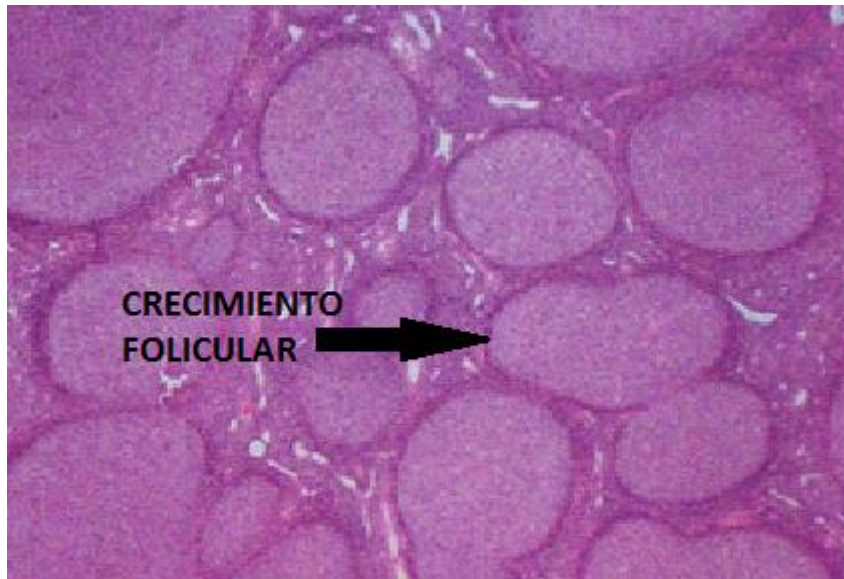
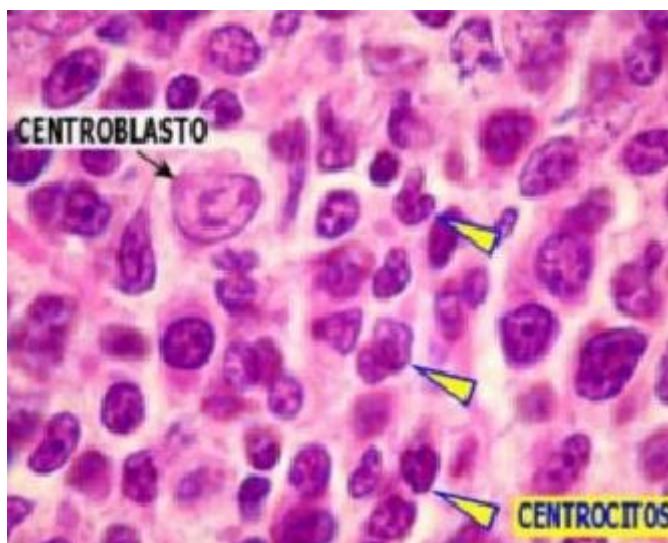


Figura 2: Composición de ganglio linfático con linfoma folicular. Fuente: Rubin et al. Patología estructural. 4ª ed. McGraw Hill Interamericana; 2006



Clínica

Muchos pacientes con linfoma folicular debutan con adenopatías periféricas en zonas cervical, axilar, inguinal y/o femoral, a veces afectadas de forma simétrica (The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project, 1997). Las adenopatías frecuentemente crecen y disminuyen de tamaño sin llegar a desaparecer, no es infrecuente que el paciente refiera largos periodos en los que las adenopatías han crecido y disminuido espontáneamente. Tampoco es raro el antecedente de una biopsia ganglionar realizada años atrás que no aportó diagnóstico alguno. Algunos pacientes presentan masas abdominales asintomáticas con o sin evidencia de obstrucción urinaria o intestinal. Los estudios de imagen normalmente demuestran enfermedad diseminada que suele afectar a bazo (40%), hígado (50%) y/o médula ósea (60-80%) (Anderson T *et al*, 1982). En contraste con los linfomas B difusos de célula grande (LBDCG), la afectación de otros órganos extraganglionares es muy rara.

Solo el 20% de los pacientes presentan síntomas B (fiebre, sudoración nocturna o pérdida de peso). No existen características analíticas típicas del LF, ya que menos del 25% de los pacientes presentan un aumento de LDH o citopenias en la sangre periférica (Martin *et al*, 1995).

La afectación a otros órganos distintos a órganos linfáticos o médula ósea es rara (Fernández de Larrea *et al*, 2011). También es infrecuente la afectación del sistema nervioso central (SNC), pero lo que sí puede aparecer es la compresión de nervios periféricos (incluyendo compresión medular) por masas adenopáticas.

En niños o adolescentes es excepcional que aparezca un LF (Louissaint *et al*, 2012), una gran proporción de estos linfomas pediátricos son biológicamente distintos de los LF de los adultos. Presentan unas características propias que incluyen: bajo estadio, afectación de región cabeza-cuello, grado III, baja tasa de expresión de la proteína BCL-2 (30%) o de reordenamiento de BCL-2 (10%), además de una alta tasa de curación. Los tumores con reordenamiento de BCL-2 presentan un curso más similar a los LF del adulto (Lorsbach *et al*, 2002).

Diagnóstico y estadio

El diagnóstico de LF se debe basar en el análisis de una biopsia ganglionar siempre que sea posible. La realización de una punción con aguja fina no se considera una opción diagnóstica válida.

Se debe realizar una historia clínica completa, examen físico que incluya palpación de todas las áreas ganglionares, hígado y bazo y analítica completa. Esta última incluirá LDH, Beta2microglobulina y estudio de hepatitis B, C y virus de inmunodeficiencia humana (VIH).

Para pacientes con LF, una tomografía computerizada (TC) de tórax, abdomen y pelvis son esenciales para el diagnóstico. El uso de PET/TC es considerado opcional y solo utilizado en casos seleccionados para seguimiento tras el tratamiento. Recientemente se han presentado datos sobre el valor pronóstico del PET/TC tras terapia de primera línea en LF. Según los autores, se puede considerar que el estado del PET tras una primera línea de tratamiento es un fuerte valor predictivo de supervivencia en LF. Se puede considerar que el PET-TC más que la TC podría ser el nuevo *gold estándar* para valorar respuesta en la práctica clínica (Trotman *et al*, 2014).

En función de los hallazgos de la exploración y de las pruebas de imagen, se lleva a cabo el estadiaje con el sistema Ann-Arbor. Se puede añadir la letra B si presenta síntomas B, la X si presenta enfermedad bulky y la S si existe afectación de bazo.

Tabla 1: Clasificación por estadios de Ann-Arbor

	Clasificación por estadios de Ann-Arbor
I	Afectación de una única región ganglionar o región extraganglionar (IE)
II	Afectación de 2 o más regiones ganglionares en el mismo lado del diafragma o localización extraganglionar y regiones ganglionares en el mismo lado del diafragma (IIE)
III	Afectación de regiones ganglionares en ambos lados del diafragma, pueden estar acompañadas de afectación extralinfática (IIIE)
IV	Afectación diseminada de uno o más órganos extralinfáticos

Pronóstico

El curso de la enfermedad puede ser muy variable. En algunos enfermos el curso es especialmente indolente, con largos períodos en los que las adenopatías crecen y decrecen sin necesitar tratamiento específico (Horning *et al*, 1984). Otros sin embargo, se presentan con enfermedad muy diseminada y de rápido crecimiento, precisando tratamiento a corto plazo debido a la afectación ganglionar o visceral masiva.

Los dos mejores marcadores de pronóstico son el Índice Pronóstico Internacional de Linfoma Folicular (FLIPI) y el grado tumoral (Relander *et al*, 2010). El FLIPI considera el estadio, la edad y el nivel de LDH, añade el nivel de hemoglobina y el número de áreas ganglionares. Este índice pronóstico ha sido validado posteriormente en otras series distintas (Van der Schans *et al*, 2009).

Tabla 2: Características clínicas FLIPI

Características FLIPI
Edad mayor de 60 años
Aumento de valor de LDH
Nivel de hemoglobina < 12 gr/dL
Estadio Ann-Arbor III-IV
Más de 4 áreas ganglionares afectas

Tabla 3: Supervivencia en función de escala FLIPI

FLIPI	Factores de riesgo	Supervivencia 5 años (%)	Supervivencia 10 años (%)
Bajo	0-1	91	71
Intermedio	2	78	51
Alto	3-5	52	36

Recientemente se ha propuesto una nueva variante de este índice pronóstico, denominada FLIPI2. Este índice se ajusta mejor a la realidad actual del problema, pues ha sido desarrollado con pacientes tratados con inmunoterapia y los discrimina en grupos de acuerdo con el intervalo libre de progresión de enfermedad, que es una variable más apropiada para los linfomas foliculares (Federico *et al*, 2009).

Tabla 4: Características clínicas FLIPI2

Características FLIPI2
Edad mayor de 60 años
Afectación médula ósea
Nivel de hemoglobina < 12 gr/dL
Tamaño de la mayor área ganglionar afecta superior a 6 cm
Nivel de Beta2 microglobulina aumentado

Tabla 5: Supervivencia en función de escala FLIPI2

FLIPI2	Factores de riesgo	Supervivencia libre progresión 3 años (%)
Bajo	0	91
Intermedio	1-2	69
Alto	3-5	51

También se considera un factor pronóstico el grado tumoral, así, los tumores con grado 3B tienen un comportamiento similar a los LBDCG (Chau *et al*, 2003).

Parece que la cantidad y calidad de la respuesta celular a las células tumorales del LF influyen en la historia natural de la enfermedad. Múltiples estudios indican que una respuesta inmune rica en células T predice un mejor pronóstico (Carreras *et al*, 2006), mientras que una respuesta dominada por macrófagos se asocia con un peor pronóstico (Byers *et al*, 2008).

Los pacientes tienen por lo general una supervivencia prolongada, con medianas que pueden alcanzar o superar los 10 años. Tienen elevada proporción de respuestas a los diferentes tratamientos administrados, aunque las respuestas se suceden de recaídas sucesivas con un intervalo de tiempo cada vez menor. A pesar de esta alta quimiosensibilidad, históricamente, ni la supervivencia global ni la supervivencia libre de enfermedad pudo ser modificada durante décadas. Esta situación ha cambiado gracias a la introducción de la quimio-inmunoterapia en el 2003 y los tratamientos de consolidación y mantenimiento, lo que ya se refleja en las estadísticas poblacionales (Swenson *et al*, 2005). La mediana de supervivencia se ha aumentado a los 14 años y la supervivencia sin progresión a los 5 años (Fisher *et al*, 2005).

Tratamiento

El primer aspecto a tener en cuenta a la hora de tratar a un paciente con LF es el grado histológico (1, 2, 3A o 3B). Los pacientes con LF de grado 3B deben recibir tratamiento de LBDCG. Por otro lado el tratamiento inicial de pacientes con LF está condicionado por la extensión de la enfermedad. Por tanto se puede dividir el tratamiento de los LF según estemos hablando de estadio inicial o avanzado.

Estadio inicial

El diagnóstico de linfoma folicular en estadios I y II y sin grandes masas y otros factores de riesgo es infrecuente, representando únicamente el 10-20% de los pacientes. En algunos casos en esta situación se han documentado remisiones espontáneas parciales hasta en el 20% de los pacientes (Krikorian *et al*, 1980). Por

eso, una de las opciones terapéuticas es la observación sin administrar ningún tratamiento ya que no compromete la supervivencia a largo plazo.

Independientemente de este dato, la radioterapia (RT) parece ser la opción terapéutica más importante, ya sea en forma de irradiación nodal total o irradiación de los campos afectos y adyacentes. Con este tratamiento la mayoría de los enfermos alcanza una respuesta completa, con supervivencias globales a los 5 y 10 años del 65-84% y 66-68% respectivamente y con posibilidades de curación definitiva del 40-50% a largo plazo (Wilder *et al*, 2001). Las dosis recomendadas oscilan entre 30 y 40 Gy y la tendencia es la de irradiar campos regionales con sobreimpresión de las zonas afectas (Kamath *et al*, 1999). En un estudio reciente de pacientes con estadio inicial se comparó la administración de RT campo afecto y RT reducida, encontrando que la reducción en el campo de radioterapia no impactó en la supervivencia de los pacientes (Campbel *et al*, 2010).

El tratamiento secuencial de RT y quimioterapia reduce la supervivencia libre de recaída pero no afecta a la supervivencia global (McLaughlin *et al*, 1991).

Estadio avanzado

El diagnóstico de los linfomas foliculares en estadios avanzados es, con mucho, la situación más frecuente en la clínica. Aproximadamente el 15% son estadios III y el 65% son estadios IV. La supervivencia antes de la aparición del rituximab era del 50-90% a 5 años. Las cuestiones a plantear van desde la indicación o no de iniciar un tratamiento activo hasta la elección del mejor tratamiento disponible.

Observación ("Watch and Wait")

Algunos estudios publicados no demostraron que el tratamiento inmediato, después del diagnóstico, en pacientes con linfoma folicular asintomático mejorase la supervivencia global respecto a la simple observación y tratamiento diferido a la progresión sintomática (Ardeshtna *et al*, 2003). Por tanto, en ausencia de factores de riesgo, posponer el tratamiento hasta progresión de la enfermedad, sobre todo en pacientes ancianos o aquellos con enfermedades concomitantes, se ha venido considerando una opción razonable. En la actualidad los criterios más utilizados

para definir a los enfermos de bajo riesgo o “baja masa tumoral” son los del grupo GELF (Groupe d’Etude des Lymphomes Folliculaires):

- Afectación de 3 o más áreas ganglionares cada una con un diámetro superior a 3 cm
- Nódulo o masa extraganglionar con diámetro superior a 7 cm
- Presencia de síntomas sistémicos o síntomas B
- Esplenomegalia
- Presencia de derrame pleural o ascitis (independientemente de su contenido celular)
- Citopenias ($Hb < 10$ g/dl, $< 1,5 \times 10^9$ /Leucocitos o $< 100 \times 10^9$ Plaquetas)
- Fase leucémica (con más de 5×10^9 /L células circulantes malignas)
- Síntomas locales o compromiso en la función de algún órgano por progresión de la enfermedad o enfermedad bulky.

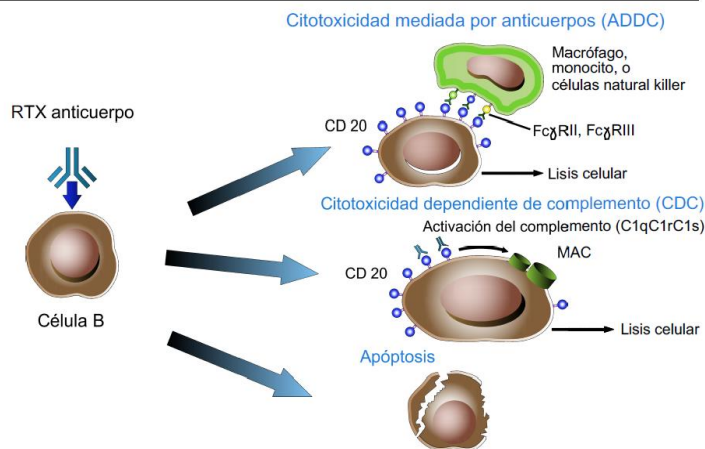
En el estudio F2 de registro del International Follicular Lymphoma Prognostic Factor Project se analizaba la cohorte de pacientes con LF de bajo grado que se manejaban con observación frente a los manejados con regímenes con rituximab. La supervivencia a 5 años fue similar en ambos grupos (87 vs 88% respectivamente), concluyendo que en la era rituximab la estrategia de “esperar y ver” sigue siendo válida para los pacientes con factores pronósticos favorables y tumores de bajo grado (criterios GELF) (Solal-Céligny *et al*, 2012).

Rituximab

En cuanto a la inmunoterapia, ésta se ha vuelto una pieza fundamental para los pacientes con LF. Su incorporación a los tratamientos ha aumentado las tasas de respuestas, la supervivencia libre de progresión y la supervivencia global (Marcus *et al*, 2008). El anticuerpo anti-CD20 rituximab ha sido el primero utilizado.

Figura 3: Mecanismo de acción de rituximab

Rituximab: Mecanismo de Acción



El rituximab (R) se suele combinar con distintos regímenes de quimioterapia:

- R-CVP (Ciclofosfamida, vincristina y prednisona con rituximab)
- R-CHOP (Ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina y prednisona con rituximab)
- R-B (Bendamustina con rituximab)(Rummel *et al*, 2009)(Rummel *et al*, 2013)
- R-R (Fludarabina y rituximab)
- R-FMD (Fludarabina, mitoxantrone y prednisona con rituximab)

La seguridad y eficacia de rituximab combinado con CHOP como primera línea fue establecida en un estudio prospectivo fase III que asoció R-CHOP con un 60% de reducción en el riesgo de fallo de tratamiento, altas tasas de respuestas y aumento en el tiempo de remisión (Hiddemann *et al*, 2005). Otros esquemas como R-CVP han demostrado similares beneficios (Marcus *et al*, 2008). Se han comparado directamente los distintos esquemas de quimioterapia (QT) entre sí (Nastoupil *et al*, 2011) y la única diferencia han sido las tasas de segundos tumores: 8% para R-FM, 2% para R-CVP y 3% para R-CHOP (Federico *et al*, 2013). Por este motivo la quimio-inmunoterapia con fludarabina no se considera una terapia óptima inicial para pacientes con LF debido a la toxicidad que presenta y al aumento de segundas neoplasias.

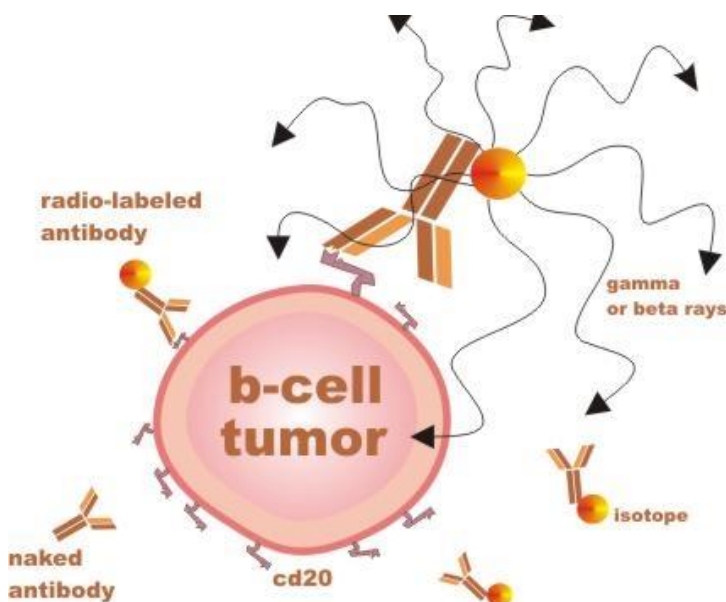
Trasplante

El trasplante alogénico puede curar a un porcentaje de pacientes con enfermedad avanzada pero está relacionado con una mortalidad en relación con el propio tratamiento del 30%. Está reservado para pacientes jóvenes con LF resistente o recidivado. Existen 4 ensayos clínicos randomizados que han estudiado su papel. A pesar de que han demostrado aumento de supervivencia libre de progresión, ninguno ha mostrado un beneficio en la supervivencia global (Lenz *et al*, 2004) (Deconninck *et al*, 2005)(Sebban *et al*, 2006)(Ladetto *et al*, 2008).

Radioinmunoconjugados

Se trata de conjugar un radioisótopo (I^{131} o Y^{90}) con un anticuerpo monoclonal (anti CD20); así somos capaces de suministrar radiación directamente sobre el tumor. Tanto el ibritumomab (Zevalin®) como el tositumomab (Bexxar®) han demostrado eficacia en LF recidivados o refractarios, actualmente están aprobados para pacientes tras respuesta parcial o completa tras primera línea de quimioterapia (como consolidación)(Kaminski *et al*, 2009).

Figura 4: Mecanismo acción radioinmunoconjugados



Por otro lado, la radioimmunoterapia (RIT) puede ser integrada como parte del régimen de acondicionamiento pre-trasplante mediante dosis ascendentes de RIT

(Press *et al*, 1993) o RIT no mieloablativa combinada con QT mieloablativa (Zhang MM *et al*, 2008)(Winter *et al*, 2006)(Krouri *et al*, 2006).

Para pacientes de edad avanzada, comorbilidades o incapacidad para recolectar stem cell periféricas, el trasplante alogénico no mieloablativo se emplea para conseguir efecto injerto contra linfoma o “graft versus lymphoma” (GVL). En este contexto se suele necesitar citorreducción adicional para mejorar los resultados y se ha planteado la hipótesis de que la RIT podría conseguirla (Gopal *et al*, 2006). Existen estudios que encuentran bajas tasas de toxicidades no hematológicas (<10% grado 4), ninguna muerte en relación con el tratamiento y una supervivencia libre progresión (SLP) a 3 años del 51% (Gopal *et al*, 2007). De todas formas se necesitan estudios con más pacientes y con seguimientos más prolongados para llegar a establecer el papel de los radioinmunoconjugados añadidos a las terapias de acondicionamiento del trasplante.

Terapia de mantenimiento

La terapia de mantenimiento consiste en prolongar la administración de agentes con baja toxicidad con idea de prevenir la progresión de la enfermedad. Los principales estudios que han investigado el uso del mantenimiento con rituximab después del tratamiento combinado de rituximab con la quimioterapia han sido dos: el estudio de la ECOG (E1496) que demostraba aumento de SLP de 64% versus 33% sin cambios estadísticamente significativos en SG (Hochster *et al*, 2009) y el estudio PRIMA (Primary Rituximab and Maintenance) con aumento de SLP a 3 años del 75% versus 58% (Salles *et al*, 2011).

Se puede concluir que el mantenimiento ha demostrado mayores tasas de supervivencia libre de progresión y alta tasas de respuestas completas, con mayores tasas de infecciones y efectos secundarios. Por estos datos el rituximab se aprobó en enero del 2011 como terapia de mantenimiento para pacientes con LF con al menos respuesta parcial tras terapia inicial. Debe de ser administrado cada 2 meses durante un total de 2 años.

También se ha estudiado el papel del mantenimiento con rituximab en segunda línea en pacientes con enfermedad en recaída o refractarios. Dos estudios

randomizados han demostrado un aumento de SLP con mantenimiento frente a observación: en el primero la mediana de PFS con rituximab no fue alcanzada tras 26 meses de seguimiento comparado con la rama de observación (Forstpointner *et al*, 2006) y en el estudio EORTC 20981 el mantenimiento con rituximab mejoró la mediana de PFS (3,7 años vs 1,3 años; $p < 0,001$) frente a observación (Van Oers *et al*, 2006) pero con una mediana de seguimiento de 5 años no hubo diferencia entre las dos ramas del estudio (74% vs 64%) (Van Oers *et al*, 2010).

Segunda línea de tratamiento

Tras la terapia inicial los pacientes pasan a un periodo de observación. La indicación de tratamiento en la recaída se basa en los criterios GELF modificados como en la primera línea. A la progresión, la enfermedad debe ser histológicamente confirmada para excluir transformación, especialmente en presencia de aumento de LDH, rápido crecimiento, desarrollo de enfermedad extraganglionar o aparición de síndrome constitucional. Se puede realizar un PET/TC para orientar sobre zonas de alta captación sobre las que llevar a cabo una biopsia, sobre todo zonas con SUV por encima de 13.

Para los pacientes que requieran una terapia de segunda línea las opciones incluyen inmuno-quimioterapia con esquemas como R-BV (bendamustina, bortezomib, rituximab), R-FCM (fludarabina combinada con rituximab) o cualquier régimen de segunda línea usados para pacientes con LBDCG.

Para los pacientes en remisión tras una segunda línea una terapia posible es el mantenimiento con rituximab, aunque si el paciente ha progresado en los primeros 6 meses tras el mantenimiento en una primera línea el beneficio parece ser mínimo. El trasplante es una terapia apropiada para pacientes tras una segunda o tercera remisión. El trasplante alogénico también puede ser considerado pero para pacientes muy seleccionados.

2. Transformación histológica

La transformación histológica (TH) de los linfomas foliculares es un evento considerado normal en la historia natural de este tumor, pero la definición de LFT varía considerablemente entre las distintas series publicadas. Esto se debe a que la TH se diagnostique basándose en criterios meramente clínicos, histológicos o citológicos. El LF suele transformarse sobre todo a LBDCG (Qazi *et al*, 1976)(Al-Tourah *et al*, 2008) y otros como los recientemente denominados linfomas B inclasificables con características entre los LBDCG y el linfoma de Burkitt (LB)(Swerdlow *et al*, 2008), a un LB o un linfoma/leucemia linfoblástica (LLA) (De Jong *et al*, 1988)(Gauwerky *et al*, 1988).

La importancia de estudiar la transformación histológica es que mientras que el curso clínico de los LF suele ser indolente durante décadas, cuando una transformación histológica ocurre, la media de supervivencia desciende bruscamente (2,5 meses a 2 años).

Antecedentes y estado actual del tema

El LF es uno de los LNH más frecuentes en adultos, siendo un proceso linfoproliferativo incurable con una media de supervivencia de 8-10 años. Este tumor deriva de las células B del centro folicular y en la mayoría de los casos presentan la translocación cromosómica t(14;18)(q32;q21), que produce una sobre-expresión de la proteína BCL 2. Aunque inicialmente es una enfermedad indolente, el LF presenta múltiples recaídas y pierde progresivamente la sensibilidad al tratamiento quimioterápico, teniendo como principales causas de muerte la resistencia a los tratamientos y la transformación a formas más agresivas. En este proceso una población de células agresivas crece y hace que se pierda el patrón de crecimiento folicular, presentando un curso clínico refractario a los tratamientos con corta supervivencia (menos de 2 años)(Oviatt *et al*, 1984)(Armitage *et al*, 1981). Aunque este proceso fue descrito por primera vez hace más de 70 años por Gall y Mallory (Gall *et al*, 1942), su proceso biológico y eventos clínicos siguen siendo desconocidos (Lossos *et al*, 2005). Existen muchas preguntas no contestadas: una definición reproducible de transformación

histológica, su incidencia real, como predecir este suceso, que fármacos pueden mejorar su supervivencia...

La definición considerada como patrón oro o “gold estándar” de transformación a alto grado está basada en la demostración histológica de un aumento de la proporción de células grandes infiltrando de forma difusa el ganglio linfático con una desaparición de la arquitectura normal folicular. Por tanto, una auténtica transformación requiere la demostración de una relación clonal entre el LF original y las neoplasias derivadas de él (Lossos *et al*, 2002)(Do *et al*, 2003). El diagnóstico de TH en muchos estudios se lleva a cabo sin realizar una nueva biopsia, estableciéndose el diagnóstico basado en la presencia de: aumento de lactato deshidrogenasa (LDH), rápido crecimiento ganglionar, afectación de nuevas áreas ganglionares, aparición de síntomas B y aparición de hipercalcemia. Sin embargo estos criterios clínicos pueden relacionarse con progresión sin transformación y existen casos de transformación que no presentan estos síntomas. Por eso en todos los casos en los que se sospeche transformación debe de obtenerse una biopsia. En diversos estudios se ha observado una notable diferencia en los perfiles de expresión génica entre un LBDCG transformado y un LBDCG *de novo*, pareciéndose más al LF original (Lossos *et al*, 2002).

La TH se puede diagnosticar por medio de técnicas moleculares que encuentran mutaciones somáticas comunes y que comparten el mismo reordenamiento clonal. Frecuentemente se mantiene el inmunofenotipo del LF del que derivan, pero en algunos casos se ha visto pérdida o ganancia de marcadores antigénicos que demuestran heterogeneidad en el LBDCG transformado, sugiriendo que existen varios mecanismos que afectan a la transformación histológica (Maeshima *et al*, 2008).

La frecuencia de transformación del LF varía del 10 al 60% según las series. Esta diferencia probablemente tenga relación con las diferencias metodológicas entre los estudios; muchos no determinaron la clonalidad pre y post-transformación, no pudiendo distinguir entre una auténtica transformación histológica (evolución del mismo clon) o un linfoma agresivo de novo. Existen pocos estudios prospectivos con criterios predefinidos para efectuar re-biopsias, la mayoría de los datos de los que disponemos actualmente se basan en estudios retrospectivos. Acker *et al*

recogieron tasas de transformación del 20% a 5 años y 60% a 8 años (Acker *et al*, 1983). Existen otras series que definieron la transformación por criterios solo histológicos y publicaron tasas a 5 y 10 años de 30-17% y 56-28% respectivamente (Ersboll *et al*, 1989)(Montoto *et al*, 2007). Otras series utilizaron criterios histológicos y clínicos, con probabilidad de transformación a 5 y 10 años del 22-15% y 31-30% respectivamente (Bastion *et al*, 1997)(Al-Tourah *et al*, 2008).

Por otro lado, mientras algunos estudios sugieren la presencia de un pico de incidencia en el riesgo de transformación y un plateau posterior (Montoto *et al* 2007)(Link *et al*, 2013), otros se inclinan por un incremento continuo en el riesgo de transformación (Horning *et al*, 1984)(Al-Tourah *et al*, 2008). A favor de que pueda existir un plateau en la tasa de transformación están estudios moleculares que suponen la existencia de distintos subclones de LF con distintas vías oncogénicas, así pasado un tiempo, si la TH no se ha producido, no existen estas clonas celulares que lo producirían (Davies *et al*, 2007)(Carlotti *et al*, 2009)(Gentles *et al*, 2009). Estos datos son todavía inmaduros, pero se abre una vía interesante de investigación en este punto.

También se ha especulado sobre si la tasa de transformación se ve modificada por el tratamiento inicial prescrito para el LF. Mientras que algunas series recogen aumento en el riesgo de TH en pacientes no tratados de entrada (esperar y ver o “watch and wait”) otros no encuentran esta relación. Otro de los puntos sobre los que existe controversia es sobre el papel de las antraciclinas en la aparición de la TH así como el uso de rituximab tanto en combinación como en monoterapia.

Desde el punto de vista molecular, existen varias alteraciones cromosómicas que pueden estar implicadas en la supervivencia del LF, pero muy pocas han sido estudiadas como predictores de TH. Por ejemplo, la disomía en el 16p se ha asociado con un aumento del riesgo de transformación, mientras que otros factores solo se han podido relacionar con un efecto en la supervivencia (O’Shea *et al*, 2009). Entre las alteraciones cromosómicas estudiadas como inductores de transformación se incluyen las ganancias de 2q, 6p, 7p, 12q y 17q y pérdidas en 5p y 8q (Hough *et al*, 2001), reordenamientos de *C-MYC* (Yano *et al*, 1992), mutaciones de *TP53* (Lo Coco *et al*, 1993), mutaciones en la región reguladora de

BCL-6 (Lossos *et al*, 2000), mutaciones somáticas de *BCL-2* (Matolcsy *et al*, 1996) y la inactivación de p16 y p15 (Eletinoba-Johnson *et al*, 1998). La marcada heterogeneidad de estas alteraciones y que cada una de ellas se ha observado sólo en un subconjunto de linfomas transformados sugiere que ningún mecanismo genético individual es responsable de todos los eventos de transformación.

Otros estudios han intentado demostrar la relación entre el microambiente formado por células T, células dendríticas y macrófagos y la transformación histológica de los LF (Glas *et al*, 2007). Se ha desarrollado la hipótesis de que las características pro-inflamatorias del microambiente podrían inducir una alta tasa de mutaciones que podrían producir la transformación (Canioni *et al*, 2008). A día de hoy todavía no queda claro si el microambiente tiene una relación directa sobre las células tumorales o es al revés y existen factores genéticos de las células tumorales que hacen que el microambiente que las rodea sea distinto (De Jong *et al*, 2005).

Por último existen otras hipótesis que relacionan el riesgo de TH con las propiedades constitutivas del paciente. El nivel de eficiencia para reparar el daño genético puede determinar la tasa de células tumorales mutadas que sobreviven y proliferan. Se ha demostrado que la variación de los genes asociados con la inflamación y la función inmune está relacionada con el riesgo de desarrollar LNH (Cerhan *et al*, 2007). La variación de los genes de IL8, IL2, IL12B se ha asociado con la supervivencia en LF y así, se hipotetiza que variaciones de los genes de respuesta al estrés oxidativo y de reparación del daño genético podrían estar también relacionados con el riesgo de transformación en los LF (Cerhan *et al*, 2007).

Basada en toda esta información, la transformación de los LF puede estar causada por características intrínsecas de las células tumorales, factores del microambiente y propiedades constitutivas específicas del paciente (De Jong *et al*, 2009). Por eso es muy importante que se desarrollen estudios para dilucidar la relevancia de estos mecanismos en la transformación y aporten estrategias para predecir y prevenir la transformación de los LF.

Características clínicas y diagnósticas de la transformación histológica

No existen a día de hoy características clínicas definidas unánimemente en el momento del diagnóstico del LF que puedan predecir la transformación. En general, las características que se asocian con peor pronóstico para pacientes con LF también se relacionan con aumento del riesgo de TH. Muchos estudios han relacionado la TH con estadios avanzados, presencia de síntomas B, enfermedad bulky, aumento del nivel de $\beta 2$ microglobulina, niveles bajos de albúmina, altos IPI o FLIPI (Giné *et al*, 2006). Esto último no es raro ya que estas escalas son meros indicadores de un mal pronóstico, reflejando características tanto del tumor como del paciente. También se ha dicho que los pacientes que no alcanzan respuesta completa tras una terapia inicial tienen mayor riesgo de transformación histológica (Bastion *et al*, 1997).

La presentación clínica en el momento de la transformación es variable. Se debe sospechar si aparece un deterioro claro del estado general (Al Mansour *et al*, 2010), rápido crecimiento de adenopatías que se asocie con dolor, si se afectan órganos no frecuentes (sistema nervioso central o hígado), si el paciente presenta aumento brusco y llamativo de LDH o desarrolla nuevos síntomas B (hasta en el 30-56% de los pacientes). También pueden presentar hipercalcemia pero es raro que sea la primera manifestación de una TH. Muchos de los pacientes en el momento de la transformación tienen una enfermedad avanzada, aunque también se ha descrito en pacientes con enfermedad limitada (Yuen *et al*, 2008). También conviene recordar que en algunos casos la TH se diagnostica en ausencia de factores clínicos claros, simplemente en el contexto de una recaída de un LF que se rebiopsia o en series de autopsias de pacientes con LF.

Una nueva arma diagnóstica que podría ayudar a la hora de aclarar la sospecha de una TH sería la introducción de la tomografía por emisión de positrones (PET) en el seguimiento de los pacientes con LF. Esto se relaciona con el efecto Warburg, que en oncología hace referencia al hecho de que la mayor parte de las células tumorales producen energía por un proceso de glicólisis anaeróbica en lugar de utilizar la vía de oxidación aeróbica en la mitocondrias. Las células malignas tienen, típicamente, unas tasas de consumo de glucosa unas 200 veces mayores

que las células normales que les dieron origen y esto ocurre aún con un aporte pleno de oxígeno (Warburg *et al*, 1956). Actualmente se cree que podría ser la consecuencia de un daño en las mitocondrias o una adaptación al ambiente bajo en oxígeno que existe dentro del tumor o el resultado de oncogenes que desactivan las mitocondrias debido al rol que desempeñan en el programa de apoptosis (López-Lázaro *et al*, 2008). La PET unida a la TC puede delimitar la afectación por un linfoma con más sensibilidad que otras técnicas de imagen como TC simple o la resonancia magnética nuclear (RMN), consiguiendo un cambio de estadiaje y de manejo clínico de los pacientes hasta en 8-42% de los casos (Schoder *et al*, 2001).

En relación a esto, existen estudios que han encontrado aumento en los valores de captación estándar o “estándar uptake value” (SUV) tras una TH (Schoder *et al*, 2005). Analizando los datos de los pacientes con linfomas indolentes se encontró que la mayoría de ellos (62%) presentaban un SUV mayor de 10 en el momento en que se producía una TH a formas más agresivas. Se demostró así que un incremento en la agresividad de la enfermedad solía ir en paralelo con un aumento en los valores de SUV. También normalmente se presupone que la biopsia de una afectación ganglionar representa a la enfermedad en conjunto, pero en este estudio se sugería que los pacientes con LF en los que se sospechaba una transformación, se debía repetir la biopsia en el área con aumento de captación de SUV. Posteriormente se llevó a cabo un segundo análisis tras ampliar la base hasta 41 pacientes. Los datos fueron similares al primer análisis, mostrando que un valor de SUV mayor de 10 predecía la presencia de un linfoma agresivo con un 80% de especificidad y si el SUV era superior a 13, era mayor del 90%. Lo que se puede concluir con bastante seguridad es que llevar a cabo una PET-TC en el momento que se sospecha una transformación puede ayudar a seleccionar el lugar de la biopsia ya que se ha visto que los ganglios linfáticos con TH tienen altas tasas de SUV (Noy *et al*, 2009).

En el contexto del linfoma folicular transformado existen también investigaciones recientes sobre la correlación del SUV máximo con datos clínicos como tasa de Ki67 y grado histológico (Novelly *et al*, 2015). Esto podría tener implicaciones importantes sobre todo cuando se sospeche que se ha producido una

transformación histológica, tanto para apoyar el diagnóstico como para guiar la realización de biopsias en zonas sospechosas.

También recientemente se está investigando el papel de la 3'-desoxi-3'-18F-fluorotimidina (18F-FLT) para el diagnóstico de TH en lugar de la habitual 18F-FDG (Wondergem *et al*, 2015). Estos estudios se basan en que la 18F-FLT puede reflejar mejor la proliferación que la 18F-FDG. Comparando directamente pacientes con linfoma folicular y pacientes con transformación histológica confirmada por biopsia, de momento no se ha podido confirmar esta hipótesis ya que la capacidad para discriminar de la 18F-FDG fue de 0,97, mientras que la de la 18F-FLT fue de 0,76 ($p = 0,0039$).

Incidencia de transformación histológica

Como hemos recogido anteriormente, las tasas de transformación histológica varían en las series publicadas desde el 10 al 60%. Estas amplias diferencias se deben probablemente a las diferencias metodológicas de los distintos estudios; distintas poblaciones incluidas, diferencias en la definición de TH y distintos métodos diagnósticos. Se puede ver en detalle estas diferencias en la **Tabla 6**.

Los primeros estudios al respecto se iniciaron a finales de los años 70 donde se recogían incidencia de transformación del 27% con supervivencias de 5 meses (Cullen *et al*, 1979). También de esa época, en estudios de autopsias se recogieron tasas de hasta el 63% (Risdall *et al*, 1979). Se empezó a postular que la TH tenía un significado pronóstico importante, registrándose medianas hasta la TH de 49 meses con supervivencias posteriores de 17 meses (Ostrow *et al*, 1981).

Dos estudios americanos de los años 80 encontraron tasas de TH del 30% con 11 meses de supervivencia (Hubbar *et al*, 1982). La mediana de tiempo hasta TH fue de 51 meses y se recogieron riesgos de TH del 20% a 5 años con un descenso gradual tras 7 años (Acker *et al*, 1983). Por el contrario otras series de la misma época describen un incremento continuo en el riesgo de TH sin que demostraran relación entre tratamientos iniciales y riesgo de TH (Horning *et al*, 1984).

De los pacientes que componían la serie del NIH de 1982 se llevaron a cabo 192 autopsias y se comparó la tasa de TH previa con la vista en dichas autopsias. 56

pacientes tenían un linfoma folicular y en 35 de ellos se comprobó que se había producido una transformación (63%)(Garvin *et al*, 1983).

En series de pacientes posteriores la tasa de TH seguía siendo elevada (30-40%) con unos pocos meses de supervivencia (2,5 meses-10 meses) (Oviatt *et al*, 1984)(Gallagher *et al* 1986). Estos datos negativos de supervivencia fueron confirmados en otras series pero diferenciaban dos tipos de recaída tumoral: una con progresión a una enfermedad agresiva (TH en el 59% de los pacientes) y otra sin cambio histológico. La SG a 10 años era del 13% para el primer tipo y del 77% para el segundo. Se recogía también que uno de los factores más importantes en relación con TH era la respuesta al tratamiento inicial (Ersboll *et al*, 1989).

En 1997 se publicó los resultados de una serie retrospectiva francesa de 220 pacientes de 1975 a 1990, con una mediana de seguimiento de 9 años. Las tasas de TH a 5 y 10 años fueron del 22% y del 31%, además, estas aumentaban de forma continua los primeros 5 años y alcanzaban posteriormente un plateau tras 6 años (similar a lo mencionado en el estudio de Acker *et al*). La media de supervivencia tras la TH fue de 7 meses, solo el 20% de los pacientes seguían vivos tras 3 años. Los factores pronósticos tras la TH fueron el estadio, niveles de LDH, presencia de síntomas B y respuesta a la terapia inicial (Bastion *et al*, 1997).

En 2007 se publicó una serie de 325 pacientes diagnosticados de LF en el Hospital St Bartholomew del Reino Unido. Con una mediana de seguimiento de 15 años, la progresión había ocurrido en 186 pacientes y de estos, en las biopsias realizadas, la transformación se había producido en 34 (29%). El riesgo de TH a 5, 10 y 15 años fue del 17, 28 y 37%, no observándose ninguna transformación más allá de los 16 años de seguimiento, alcanzando así un plateau. El riesgo fue mayor en pacientes con estadio avanzado, altos niveles en las escalas IPI y FLIPI, aumento de LDH y un tratamiento expectante (al contrario que lo reflejado por Horning *et al*). La mediana de supervivencia tras la TH fue de 1,2 años (Montoto *et al*, 2007).

En 2008 se publicaron los datos de un estudio retrospectivo con 600 pacientes llevado a cabo entre 1986 y 2001 en Canadá. La TH fue diagnosticada por criterios clínicos y/o histológicos. Con una mediana de seguimiento de 111 meses, el 28% de los pacientes fueron diagnosticados de TH, con una mediana de tiempo hasta la transformación de 40 meses. El riesgo actuarial de transformación fue del 3% (sin

alcanzar un plateau), con un riesgo a 10 y 15 años del 30 y 45% respectivamente. No se encontró diferencias en el riesgo de TH según el tratamiento inicial; parece que el único factor que influía era un estadio avanzado al diagnóstico. Cabe señalar que en este estudio no se recogían datos al diagnóstico como el FLIPI del paciente. La mayoría de los pacientes transformados (70%) fueron tratados con esquemas CHOP-like y se recogieron supervivencias de 1,7 años tras este evento (Al-Tourah *et al*, 2008).

En 2012 se publicó una serie de 281 pacientes con LF recogidos en Suiza de 1979 a 2007 y seguidos durante una mediana de 10 años. La TH fue siempre confirmada por biopsia. Durante el seguimiento la TH se produjo en 37 casos (13%) con una media de tiempo desde el diagnóstico de 2,7 años. La tasa de transformación a 5, 10 y 15 años fue del 13%, 15% y 26% respectivamente, alcanzando un pico tras los 14 años y se manteniéndose en el 26% desde ese momento. La mediana de supervivencia tras una transformación fue de 2,7 años, con SG a 5 y 10 años de 37% y 13%. Los criterios clínicos que influían en la aparición de TH fueron el tratamiento inicial con rituximab y quimioterapia (posiblemente porque se trataban con este esquema más pacientes grado histológico 3 y con más factores pronósticos adversos), haber sido diagnosticado antes de 1990 (porque son los que tenían mayor seguimiento), enfermedad bulky y afectación extranodal distinta a médula ósea (Conconi *et al*, 2012).

Un estudio prospectivo llevado a cabo de 2002 a 2009 en la Clínica Mayo recogió 631 pacientes con LF, con mediana de seguimiento de 60 meses. De toda la serie, 60 pacientes (9,5%) desarrollaron una TH (criterios clínicos y/o histológicos) con un riesgo que aumentaba los primeros 5 años y después disminuía. La tasa global de transformación fue de 10,7% (IC 95%, 8,3%-13,8%), con una tasa estimada de 2% anual. El riesgo de transformación se asoció con incremento de LDH, FLIPI mayor de 3 o hemoglobina inferior a 12 g/dL. En el análisis multivariante solo el incremento de LDH permaneció siendo significativo. En cuanto a los tratamientos recibidos, la observación fue el manejo terapéutico más asociado a TH. La mediana de supervivencia global tras la transformación fue de 50 meses, con mediana de SG a 5 años de 48% (IC 95%, 35%-68%). No hubo diferencias en supervivencia entre los transformados con confirmación patológica o sin ella. Sí que existieron

diferencias entre los pacientes que presentaron una transformación temprana (menos de 18 meses tras el diagnóstico de linfoma folicular) y los que lo presentaron más tardía (22% vs 76%, $p<0,001$) (Link *et al*, 2013).

En 2013 se publicaron los datos de una serie de 237 pacientes con LF limitado y tratados únicamente con radioterapia con intención curativa. Con una mediana de seguimiento de 4,7 años se registraron 34 transformaciones, con un riesgo de transformación a 5 y 10 años del 9% y 18,5%. La mediana de tiempo a la transformación fue de 3,6 años; casi la mitad de los casos (47%) ocurrió pasados 5 años del diagnóstico inicial de LF, sin alcanzar un plateau. No se encontraron factores clínicos iniciales asociados a TH. Lo que sí encontraron fue una mayor supervivencia si tras la TH los pacientes recibían esquemas de QT que incluyesen rituximab (Bains *et al*, 2013).

En 2015 se publicaron los datos del estudio prospectivo National LymphoCare Study (NLCS) con 2652 pacientes de 2004 a 2007, con una mediana de seguimiento de 6,8 años. Un 14,3% de los pacientes presentaron TH ya sea confirmada mediante biopsia (Bx) (5,5%) como sospechada clínicamente (8,7%). Las tasas de transformación a 2, 4, 6 y 8 años fueron de 6% (IC 95% 5-7%), 11% (9-12%), 15% (14-17%) y 19% (17-21%) respectivamente. Los factores clínicos al diagnóstico asociados con incremento del riesgo de TH fueron PS>1, afectación extranodal, aumento de LDH y síntomas B. Comparando los pacientes que recibieron tratamiento vs los que se decidió observación, las tasas de transformación fueron de 13,4% vs 17,8% (HR 0,58, IC 95% 0,46-0,75). Entre recibir antraciclinas o no, 11,9% vs 14,4% (HR 0,69, IC 95% 0,52-0,91), entre recibir rituximab o no, 13,4% vs 18,3% (HR 0,61; IC 95% 0,34-1,11) y entre rituximab de mantenimiento u observación, 9,2% vs 13% (HR 0,67, IC 95% 0,46-0,97). La supervivencia a 5 años fue peor en pacientes con TH vs población general de pacientes con LF (Wagner-Johnston, 2015).

En 2016, con 6 años de seguimiento, se publicaron los resultados del estudio PRIMA en 1018 pacientes con LF tratados con rituximab en inducción y mantenimiento. La incidencia acumulada de TH histológicamente confirmada fue del 4,1%. Los factores asociados con TH fueron grado histológico 3A, Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) mayor de 2, hemoglobina <12 gr/dL,

aumento de LDH, presencia de síntomas B y FLIPI mayor de 2. Con respecto a los tratamientos que recibían los pacientes, el trasplante autólogo mejoraba la supervivencia de los pacientes con TH pero no de los pacientes con LF en progresión sin transformación (Sarkozy *et al*, 2016).

Tabla 6: Riesgo de transformación histológica y supervivencia

Autor (año)	Nº pacientes (evaluables)	Diagnóstico	Pacientes con TH	Frecuencia TH	SPV tras TH	Riesgo de TH
Cullen (1979)	64 (21)	Bx	4	27%	5 meses	
Risdall (1979)	92 (35)	Autopsias	22	63%		
Ostrow (1981)	56 (28)	Bx	11	40%	17 meses	
Hubbard (1982)	205 (63)	Bx	19	30%	11 meses	
Acker (1983)	150 (78)	Bx	22	28%	11 meses	5 años: 20% 8 años: 60%
Garvin (1983)	192 (56)	Autopsias	35	63%		
Horning (1984)	83 (23)	Bx	10	44%		
Oviatt (1984)	75 (34)	Bx	13	38%	2.5 meses	
Gallagher (1986)	148 (72)	Bx y autopsia	23	32%	10 meses	
Ersboll (1989)	127 (51)	Bx	30	59%		5 años: 30% 10 años: 56%
Bastion (1997)	220 (47)	Bx y clínico	52	24%	7 meses	5 años: 22% 10 años: 31%
Montoto (2007)	325 (186)	Bx	34	29%	1.2 años	5 años: 17% 10 años: 28% 15 años: 37%
Al- Tourah (2008)	600	Bx y clínica	170	28%	1.7 años	10 años: 30% 15 años: 45%
Conconi (2012)	281	Bx	37	13%	2.7 años	5 años: 13% 10 años: 15% 14 años: 26%
Link (2013)	631	Bx y clínica	60	10%	4.1 años	5 años: 11%
Bains (2013)	237	Bx y clínica	34	14%	OS a 3 años: 44%	5 años: 9% 10 años: 18%
Wagner-Johnston (2015)	2652	Bx y clínica	379	14%	5 años	4 años: 11% 8 años: 19%
Sarkozy (2016)	1018 (463)	Bx	40	4.1%	3.8 años	

Tratamiento de la transformación histológica

La mediana de supervivencia tras una TH en la era rituximab es de 4-5 años, pero depende de la situación de la enfermedad. La SG a 5 años es del 66% para una transformación con enfermedad limitada frente al 19% si lo hace como enfermedad avanzada ($p < 0,0001$) (Al-Tourah *et al*, 2008). Las opciones de tratamiento incluyen radioinmunoconjugados (RIC), QT con o sin rituximab, autotrasplante o trasplante alogénico.

Quimioterapia con radioterapia en enfermedad localizada

Sería una opción válida de tratamiento para pacientes con TH enfermedad localizada. En el estudio de British Columbia (Al-Tourah *et al*, 2008) los pacientes con enfermedad limitada no bulky en el momento de la transformación recibían 3 ciclos de CHOP con radioterapia sobre campo afecto. La SG a 5 años fue del 66%, indicando que este seleccionado grupo de pacientes con factores de riesgo favorables puede ser tratado con este régimen únicamente. Ya se tenían datos similares de un estudio de Stanford donde pacientes con áreas transformadas muy delimitadas se trataban con radioterapia sobre campo afecto y alcanzaban respuestas completas (RC) de hasta el 70% (Yuen *et al*, 1995).

Esquemas de quimioterapia

Si los pacientes han recibido previamente antraciclinas, una opción de tratamiento serían los régimen de rescate con sales de platino: ifosfamida, carboplatino y etopósido (ICE) (Wong *et al*, 2012) o etopósido, metilprednisona, ARA-C y cisplatino (ESHAP) o gemcitabina, cisplatino y dexametasona (GPD), combinados todos ellos con rituximab. Es decir, para pacientes que hayan recibido previamente R-CHOP se deberían de buscar esquemas de quimioterapia similares a los utilizados para tratar los LBDCG.

Rituximab

Rituximab con quimioterapia

En la era pre-rituximab la supervivencia para pacientes con TH en muchas series fue extremadamente pobre con un mediana de supervivencia de 1-2 años (Bernstein *et al*, 2009). No existe un tratamiento estándar para los linfomas

transformados, la elección de la terapia depende más de los tratamientos previos. No existen estudios prospectivos comparativos y muchas de las series publicadas están hechas en la era pre-rituximab.

En 2007 se presentaron los datos retrospectivos de una serie de 108 pacientes con LfT rituximab naïve de la base de la Bristish Columbia (Al-Tourah *et al*, 2007). Registraron SG a 5 años del 33% con CHOP-like versus un 61% para R-CHOP ($p=0,001$). Posteriormente, de la base de datos de Stanford, se publicaron los resultados de 190 pacientes con LfT recogidos de forma retrospectiva (Tan *et al*, 2008). La mediana de SG se incrementaba de 1,3 años en la época de 1960-1975 a 3,3 años en la era de 1997-2003 ($p=0,004$). Los pacientes tratados con rituximab ($n=42$) tenían supervivencias globales mayores tras la transformación ($p=0,0001$).

Existen estudios que comparan la supervivencia de pacientes con LfT tratados con trasplante autólogo o solo quimioterapia (Jackson *et al*, 2014). De forma retrospectiva se analiza pacientes tratados entre 1994 y 2009, 24 con trasplante tras primera remisión y 81 solo con QT. Destacar que los pacientes del grupo de QT tenían edad mayor (mediana de 62 años versus 55 años, $p=0,003$) e índices de IPI mayores ($p=0,001$). En el momento de la transformación el 72% de los pacientes recibieron CHOP ($n=7$) o R-CHOP ($n=69$) y un 22% ($n=23$) terapias basadas en platino. El 86% de los pacientes recibieron rituximab como terapia inicial para el linfoma transformado; 88% de los del grupo del autotrasplante y 85% de los de QT. En el grupo del trasplante la SLP a 2 y 5 años fue del 54% y 42%, y la SG a 2 y 5 años fue del 88% y 74%. En el grupo de QT, la SLP a 2 y 5 años fue del 57% y 30% y la SG a 2 y 5 años del 75% y 63%. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes tratados con autotrasplante en primera remisión versus aquellos tratados con quimioterapia sola.

También existen otros estudios que han comparado la supervivencia entre pacientes con LfT versus LBDCG de novo tratados todos ellos con R-CHOP (Guirguis *et al*, 2014). Se recogieron datos de 317 pacientes diagnosticados entre enero de 2002 y diciembre de 2010; 60 pacientes tenían un LfT (19%) y 257 un LBDCG novo (81%). 231 pacientes alcanzaron respuesta completa (73%) sin diferencias estadísticamente significativas entre LBDCG de novo ($n=192$, 75%) y LfT ($n=39$, 65%) ($p=0,25$). También fue similar entre los dos grupos la tasa de

recaídas (20 vs 15%, $p=0,66$). La SG a 2 y 5 años fue de 82 y 72%, sin que la TH fuese un predictor de supervivencia (HR 1,2; IC 95% 0,7-2,2; $p=0,45$). La mediana de tiempo a la progresión para los LFt fue de 21,1 meses (1-79,1 meses) y para los LBDCG de 28,2 meses. Así, el pronóstico tras R-CHOP para pacientes con linfoma transformado y mínima exposición a quimioterapia es el mismo que los LBDCG de novo.

De forma similar a este estudio, existen series que recogen los datos de pacientes con LFt que reciben rituximab por primera vez tras la TH (Chan *et al*, 2013). Presentan tasas de SG a 5 años del 62% y SLP de 56 meses, lo que marca una clara mejoría con respecto a datos históricos con SG a 5 años del 33% para pacientes tratados con CHOP solo. Así se puede concluir que los pacientes con TH naive de rituximab pueden recibir tratamiento con R-CHOP con excelentes resultados, reservando consolidación con trasplante para una situación posterior.

Otro de los estudios que apoya el tratamiento con rituximab en los pacientes con TH es el de la British Columbia de pacientes con LF tratados únicamente con RT (Bains *et al*, 2013). De los 34 pacientes con TH, 29 fueron tratados con intención curativa: 16 recibieron R-CHOP y 13 recibieron esquemas sin rituximab (CHOP like, ICE o GDP con trasplante posterior). Considerando estos 29 pacientes, el añadir rituximab mejoraba la SLP a 3 años (78% vs 15%, $p<0,00001$) y la SG (87% vs 38,5%, $p<0,00001$).

Mantenimiento

No es fácil encontrar recomendaciones en relación a su uso ya que los pacientes con TH han sido excluidos de los estudios llevados a cabo en LF. Por otro lado, el papel del rituximab de mantenimiento en pacientes con LBDCG no ha demostrado mejoría en la SG tras su uso con QT (Habermann *et al*, 2006) ni tras trasplante (Gisselbrecht *et al*, 2012). De todas formas algunos autores defienden el uso de rituximab de mantenimiento en pacientes con TH debido a su similitud original con los linfomas de bajo grado (Casulo *et al*, 2015).

También recientemente se ha estudiado la relación entre la resistencia al rituximab y la TH. Mozessohn *et al* recogieron datos de pacientes resistentes a rituximab y en estos, la tasa de TH fue del 36.3%, claramente más alta de la

esperada. También concluyeron que en los pacientes que habían recibido rituximab de mantenimiento, la tasa de transformación fue del 8% a 5 años frente a los que habían recibido inmunoterapia sin el mantenimiento que fue del 20% a 5 años. En este estudio se destaca la importancia de llevar a cabo biopsias en pacientes con resistencia a rituximab ya que muchos de ellos pueden tener una transformación histológica (Mozessohn *et al*, 2014).

Nuevos fármacos

Bendamustina

Se ha estudiado como monoterapia en pacientes con LF recaídos y tratados entre 2003 y 2005 (Friedberg *et al*, 2008). Se recogieron datos de 77 pacientes, 15 de ellos con LFt. La tasa de respuestas globales fue del 77%; entre los LFt se registraron 2 RC no confirmadas (13%) y 8 respuestas parciales (RP) (53%). La mediana de duración de la respuesta fue de 6,7 meses para todos y 2,3 meses (IC 95% 1,7-5,1 meses) para los LFt. Con una mediana de seguimiento de 26 meses, la SLP fue de 7,1 meses; 8,3 meses (IC 95% 6,6-10,9 meses) para los pacientes con enfermedad indolente y 4,2 meses (IC 95%, 2,7-5-1 meses) para aquellos con TH. A pesar de presentar altas tasas de respuestas para pacientes con TH el tiempo hasta la progresión es corto, lo que sugiere que como agente único la bendamustina no es una adecuada terapia para este subgrupo de pacientes.

Posteriormente y tras observar que la combinación de rituximab y bendamustina in vitro inducía la apoptosis de las células CD20 positivas y aumentaba la actividad antitumoral del rituximab, se llevó a cabo un estudio con los dos fármacos (Ogura *et al*, 2011). Este estudio se llevó a cabo entre 2008 y 2010, siendo su objetivo principal la toxicidad limitante de dosis. El esquema utilizado fue el de rituximab a 375 mg/m² administrado día 1 y bendamustina a dosis de 90 mg/m² o de 120 mg/m² días 2 y 3, recibiendo como máximo 6 ciclos. Se incluyeron 9 pacientes (5 con LBDCG, 2 linfomas de células del manto-LCM- y 2 LFt). Los 2 pacientes con LFt recibieron la dosis de 120 mg/m² y presentaron una RC y una RP. Aunque no se pueden sacar conclusiones definitivas debido al pequeño tamaño muestral, los resultados de este estudio resultan prometedores para la combinación.

Una línea a investigar para estos pacientes sería si la sobreexpresión de p53 puede influir en la respuesta a este fármaco. Existen casos de respuestas completas con

regímenes que incluyen bendamustina en pacientes con sobreexpresión de p53 confirmada (Sánchez-González *et al*, 2009).

Lenalidomida

El mecanismo exacto de acción de la lenalidomida es desconocido. Se ha visto que inhibe el crecimiento tumoral, induce la apoptosis e incrementa la actividad de las células mononucleares. Esto último provoca apoptosis y estimula la citotoxicidad mediada por anticuerpo que puede revertir parcialmente la resistencia a rituximab en algunas líneas celulares (Wu L *et al*, 2008).

El primer estudio, el NHL-002, incluía 49 pacientes de varias histologías (3 con LFt) (Wiernik *et al*, 2008). 1 de los pacientes con LFt consiguió alcanzar una RP (33%). Posteriormente el estudio NHL-003 reclutó 217 pacientes que recibieron lenalidomida a dosis de 25 mg días 1-21 en ciclos de 28 días. Se incluyeron: 108 LBDCG (49,8%), 57 LCM (26,3%), 33 LFt (15,2%) y 19 LF grado 3 (8,8%). La tasa de respuestas globales fue del 35% (IC 95% 29,1-42,2%); entre los LFt fue del 45% (21% RC, 24% RP, 2 estabilizaciones y 12 progresiones). La mediana de SLP para la población global fue de 3,7 meses (IC 95% 2,7-5,1 meses); para los pacientes con LFt fue de 5,4 meses y una mediana de duración de respuesta de 12,8 meses. En 2011 se analizaron estos datos centrándose en los pacientes con transformación (Czuczman *et al*, 2011). De los 33 pacientes con TH incluidos, 23 presentaban una transformación desde un LF y 7 desde una leucemia linfática crónica (LLC). Todos estos pacientes habían sido muy pretratados, con una mediana de 4 líneas previas; 24% con un trasplante previo. Lo llamativo de este estudio es que todas las respuestas se habían producido en los pacientes con TH de LF, ninguna en los pacientes con TH de LLC. Los autores concluyen que aunque el número de pacientes es pequeño parece que la histología original de la que derivan los pacientes con LFt puede influir de alguna forma en la respuesta a las terapias administradas.

En cuanto al uso de lenalidomida combinada con rituximab, existe un estudio fase II con 45 pacientes: 32 LBDCG, 4 LF y 9 LFt (Wang *et al*, 2013). Se administraron 20 mg orales de lenalidomida días 1-21 con 375 mg/m² de rituximab día 1, en ciclos de 28 días. Las tasas de respuestas fueron de 25% para LF (25% RP), 28% para LBDCG (22% RC y 6% RP) y 56% para LFt (33% RC y 22% RP). En cuanto a la

mediana de SLP: 2 meses para LF, 2,8 meses para LBDCG y 4,3 meses para LFt. Con una mediana de seguimiento de 24,6 meses, los datos de SG: 25,6 meses para LF, 10,2 meses para LBDCG y 11,5 meses para LFt. Estos resultados como destacan sus autores son prometedores sobre todo para el subgrupo de pacientes con TH, aunque se necesitan más estudios para confirmar estos resultados.

Inmunoterapia

Una eficaz respuesta inmune es fundamental para controlar cualquier tumor y los fármacos que son capaces de estimular al sistema inmune están abriendo un nuevo horizonte en los tratamientos oncológicos. Se ha demostrado que esta vía de tratamiento es eficaz en muchos tipos de cáncer y en LF y LBDCG en particular.

La proteína de muerte celular programada 1 (PD-1) es usada por las células B tumorales para evadir la respuesta inmune. PD-1 tiene dos ligandos: PD-L1 y PD-L2 (de la familia de las proteínas B7). Las células tumorales B expresan PD-L1 que interacciona con PD-1 de las células inmunes intratumorales y desencadena la supresión inmune. Así, bloqueando la activación PD-1 se podría eliminar el freno que provocan las células tumorales sobre el sistema inmune (Nowakowski *et al* 2014).

Existen datos prometedores sobre el uso del anticuerpo anti-PD1 pidilizumab. En un estudio fase II de Armand *et al* se administró pidilizumab tras trasplante autólogo a 66 pacientes con LBDCG, linfoma B primario mediastínico y LFt (estos eran el 20% de los pacientes). No se tienen los datos por separado para los pacientes con TH, pero de forma global el tratamiento con pidilizumab a 16 meses aumentaba la SLP a 72% (IC 95% 60-80%). También se objetivó que el tratamiento se asociaba con incremento de los linfocitos circulantes (Armand *et al*, 2013).

Trasplante autólogo

Se ha sugerido un potencial beneficio del trasplante autólogo en pacientes con TH, sobre todo al observarse respuestas prolongadas tras esta terapia. **Tabla 7**

Los primeros estudios de la era pre-rituximab son de los años 80, en los que se describían medianas de supervivencia de 2 meses, con un 70% de muertes en relación con el tratamiento (Schouten *et al*, 1989). Posteriormente en pacientes con LNH de bajo grado en recaída o sin alcanzar RC tras QT (incluidos 18 pacientes

con TH) se describieron SLP a 2 años de 53% (IC 95% de 36%-71%) y concretamente del 88% para los transformados (IC 95% de 71%-100%)(Freedman *et al*, 1991). También se han descrito remisiones completas duraderas en pacientes con TH tratados con esta terapia (Friedberg *et al*, 1999).

En pacientes muy seleccionados y jóvenes existen datos de medianas de supervivencia de hasta 8,5 años. En estos estudios se incluyeron únicamente pacientes con TH tratados con altas dosis de ciclofosfamida e irradiación total corporal y posterior trasplante autólogo, aunque cabe destacar que en este estudio el 50% de los pacientes tenían menos de 60 años (Foran *et al*, 1998). En otro estudio posterior con 35 pacientes con TH, la SG a 5 años y la SLP fue del 37% y 36% respectivamente (Chen *et al*, 2001). Existen otros estudios con datos similares que recogen supervivencias globales superiores al 50% con trasplante autólogo (Smith *et al*, 2009).

Sabloff *et al* recogieron la experiencia en el hospital de Ottawa durante 15 años (hasta el año 2000) en trasplante autólogo para linfomas foliculares tanto transformados como no transformados. De un total de 138 pacientes, 23 pacientes presentaban un LFt. La mediana de SLP y SG para los LFt fue de 25% y 56%. Las toxicidades tardías (otros tumores o síndromes mielodisplásicos) fueron del 7% para LF no transformados y 18% para LFt. Recayeron el 37% de los LF no transformados y el 74% de los LFt con una mediana de 1,3 y 0,9 años respectivamente (Sabloff *et al*, 2007).

En 22 pacientes con LFt (11 de ellos) o con LF con factores desfavorables se han descrito SG y SLP de 81% y 72%, sin encontrar diferencias entre pacientes con TH y los que no la presentaban (Berglund *et al*, 2000).

Una de las series más grandes en la era pre-rituximab fue la de Williams *et al* con 50 pacientes con TH. Los pacientes se obtuvieron del registro europeo de trasplante de médula ósea (European Bone Marrow Transplant, EBMT) y se compararon con pacientes de similares características con LNH de bajo grado o intermedio-alto grado diagnosticados de novo (análisis caso-control). La mediana de seguimiento fue de 4 años y los datos de SG a 2 y 5 años fueron de 64% y 51% respectivamente. A los 100 días se registraron 8,3% de muertes en relación con el tratamiento (infección, neumonitis intersticial y fallo del injerto). Se compararon

los datos de los pacientes con TH con los que tenían un LNH de bajo grado no encontrándose diferencias ni en SG ni en SLP ($p=0,9$ y $p=0,6$). También se compararon con los LNH de alto grado, de nuevo sin diferencias en SG ni SLP ($p=0,4$ y $p=0,5$), aunque la mediana de SLP en el grupo de novo fue de 23 meses y en el de TH fue de 14 meses. Por todo ello, se concluía que en LFT con enfermedad residual quimiosensible o en RC, la terapia de altas dosis con trasplante posterior parecía ser una buena opción de tratamiento (Williams *et al*, 2001).

El beneficio de la “purga” del autoinjerto (tratar las células *in vitro* con anticuerpos, fármacos citotóxicos o anticuerpos monoclonales *in vivo* (rituximab)) no ha sido probado más que en ensayos clínicos. Uno de ellos, el estudio de Kasamon *et al*, se llevó a cabo en 12 pacientes con linfoma transformado quienes recibieron un autotrasplante tras el uso de 4-hidroxiperoxíciclofosfamida (4-HC) sobre las células autólogas de la médula ósea *ex vivo* y criopreservadas hasta la infusión. Los datos SG a 5 y 10 años para LFT fue 33% y 50% respectivamente. De todas formas estos datos deben de ser interpretados con cuidado debido a la pequeña muestra y la probable alta selección de los pacientes (Kasamon *et al*, 2011). Existe otro estudio anterior en el que se comparaba el uso de células purgadas vs no purgadas para un grupo de 49 pacientes con LF en el que 22 de ellos presentaban un LFT (45%), la SG a 5 años fue del 80% (Andreadis *et al*, 2005).

Teniendo en cuenta las altas tasas de recaída algunos investigadores han estudiado el efecto del trasplante alogénico versus el autólogo. En 2008, Ramadan *et al* presentaron los datos de una serie de 40 pacientes con LFT. La tasa de SG a 5 años con trasplante alogénico fue del 33% y con autólogo del 52%. Esto probablemente se deba a la alta tasa de muerte en relación con el procedimiento registrada con el trasplante alogénico (35% vs 10% a 5 años). Además se vio que el riesgo de recaída a 5 años no era diferente entre los dos tratamientos. Por eso se dice que este estudio demostró que ya que la tasa de recaída es similar y la tasa de mortalidad el mayor para el trasplante alogénico, el autólogo es superior para pacientes con linfoma transformado (Ramadan *et al*, 2008).

Entre los pocos estudios prospectivos existe un fase II con 46 pacientes transformados con enfermedad quimiosensible. Las medianas de SG y SLP fueron

de 47 y 26 meses respectivamente. Tampoco se demostró beneficio de la purga en términos de SPV (Eide *et al*, 2011).

Entrando ya en los estudios pertenecientes a la era rituximab, el grupo canadiense (Canadian Blood and Marrow Transplant Group) publicó una serie de pacientes con LFt tratados con autólogo o alogénico frente a tratamiento de rituximab-quimioterapia (R-QT). Es un estudio multicéntrico y retrospectivo desde 1994 a 2010 con un total de 172 pacientes: 22 (13%) tratados con alotrasplante, 97 (56%) con autotrasplante y 53 (31%) con R-QT. Existían diferencias entre los grupos en cuanto a la edad; en el grupo R-QT había una proporción estadísticamente significativa de pacientes mayores de 60 años ($p=0,005$). Con una mediana de seguimiento de 7 años la OS a 5 años para todos los pacientes fue de 61% sin diferencias entre los 3 grupos de tratamiento ($p=0,24$). La mortalidad en relación con el trasplante fue de 23% para alo y 5% para el autotrasplante. Se realizó también un análisis multivariante en el que se observó que los pacientes sometidos a autotrasplante tenían un aumento de OS comparados con aquellos que recibían R-QT (HR 0,13; IC 95% 0,05-0,34; $p<0,001$). Una de las principales limitaciones de este estudio es que no es randomizado y los grupos no estaban balanceados, particularmente en lo que se refiere a la mayor presencia de pacientes mayores en el grupo de la R-QT. De todas formas los autores concluyen que pacientes seleccionados con TH pueden beneficiarse del autotrasplante porque aumenta la OS frente al tratamiento de R-QT, aunque se trate de un beneficio modesto. El trasplante alogénico podría ser considerado en situaciones en las que no pueden obtenerse células para el autotrasplante o acompañado de estrategias encaminadas a reducir las muertes en relación con el procedimiento (Villa *et al*, 2013). Este artículo suscitó críticas debido a que los grupos no estaban balanceados (diferencias de edad), y porque había más pacientes quimio-naive en el grupo de R-quimio (32%) frente al de autotrasplante (16%), dando todo ello las posibles discrepancias entre el análisis general y el multivariante (Tam *et al*, 2013). Un año después el mismo grupo publicó los datos ampliados de su serie (incluyendo transformados de otras histologías indolentes), esta vez con 246 pacientes. La tasa de SG a 3 años fue del 67% y de SLP del 49%. Al igual que su

estudio previo, los resultados no se pueden generalizar ya que se trata de un estudio retrospectivo y no randomizado (Villa *et al*, 2014).

Existe otro estudio posterior del CIBMTR (Center for International Blood and Marrow Transplant Research) con 108 pacientes con LFt. La SLP y SG a 5 años fue del 35% y 50% (Wirk *et al*, 2014).

En Europa, el grupo de Oslo presentó los datos de una serie retrospectiva de pacientes con TH histológicamente confirmada tratados con autotrasplante. Se incluyeron 42 pacientes de los que 28 tuvieron respuesta a la quimioterapia. Tras el trasplante, 12 pacientes (72%) tuvieron una RC y 5 (18%) una RP. Con una mediana de 49 meses, la SLP y SG fueron de 39 y 57 meses respectivamente. Para investigar las diferencias entre los pacientes tratados en la era pre-rituximab con los que fueron tratados en la era del rituximab, este grupo comparó sus datos con la serie que había publicado anteriormente (Eide *et al*, 2011). Vieron que existía una supervivencia mayor en la cohorte de pacientes tratados en la era del rituximab ($p=0,01$) y que el tiempo desde el diagnóstico a la transformación fue mayor ($p=0,007$). Este estudio también analizó los efectos del tratamiento de rituximab; los pacientes que no habían recibido rituximab previamente tenían una SG mejor comparado con los pacientes que sí lo habían recibido. Como conclusión los autores defienden que el autotrasplante es una terapia eficaz y segura para tratamiento de pacientes con TH en la era del rituximab, aunque los enfermos tratados con rituximab previamente pueden tener una enfermedad más resistente (Blaker *et al*, 2014).

También de la era del rituximab, Madsen *et al* presentaron los datos de una serie de 85 pacientes con confirmación histológica de TH que fueron trasplantados. Compararon los resultados con los de los pacientes de la misma serie que no recibieron trasplante. Con una mediana de seguimiento de 3,4 años, la SG para el grupo del trasplante fue de 67% vs 48% para los de R-QT ($p=0,11$). En cuanto a la SLP, esta fue del 60% para el grupo de trasplante vs 30% para los de R-QT ($p=0,02$). Destacar que el impacto del trasplante fue mayor en pacientes rituximab naïve en el momento de la transformación (Madsen *et al*, 2015).

También se ha investigado si los datos de SPV eran distintos si hablábamos de una TH precoz (1 año tras diagnóstico de LF) o tardía (más de un año) Se encontró que

los datos eran mejores para los transformados precoces que para los tardíos (SG a 5 años 80% vs 32%; $p=0,018$ y SLP a 5 años de 59% vs 16%; $p=0,027$). Una razón para esta situación podría ser que los pacientes con transformaciones precoces tienen más sensibilidad a las terapias ya que no suelen estar tan pretratados como los pacientes que llevan más tiempo de evolución de su enfermedad (Reddy *et al*, 2012).

Finalmente también se han comparado los datos de eficacia de trasplante en el LFT con una serie de LBDCG en primera recaída. Lo que se pudo sacar en conclusión es que los pacientes con TH tenían una supervivencia mayor si eran naïve para tratamiento, aunque la exposición previa al rituximab no parecía influir en esa supervivencia ($p=0,11$). Como conclusión este estudio demuestra que no haber recibido tratamiento previo de ningún tipo es un factor pronóstico independiente asociado con mejor supervivencia (Lerch *et al*, 2015).

Cabe destacar como resumen que muchos de estos estudios son pequeños y heterogéneos en términos de criterios de inclusión, definición de transformación y momento de llevar a cabo el trasplante autólogo. Se encuentran diferencias en las tasas de respuestas tras trasplante del 40% al 100% y las SG 5 años varían del 33% al 81%. También existen discrepancias sobre si los resultados de SG y SLP entre pacientes con LFT y no transformados (LF o LBDCG de novo) son distintos; algunos estudios como los de Berglund y Williams recogen datos similares entre las dos series con el mismo tratamiento, mientras que Andreadis sugiere datos peores para pacientes con transformación histológica.

Existen 5 series de pacientes tratados en la era del rituximab (Villa, Ban-Hoefen, Blaker, Madsen y Lerch). La serie de Lerch encontró que los pacientes naïve para tratamiento antes de la TH tenían mejor pronóstico, sin que haber recibido rituximab influyese en esos datos. Por el contrario, para Blaker *et al* los pacientes naïve para rituximab en el momento de la transformación tuvieron una mejor SG (75% vs 30% $p=0,04$). En la serie de Ban-Hoefen las supervivencias a 5 años fueron de 80% vs 45% ($p=0,03$) (Ban-Hoefen *et al*, 2012), al igual que para Madsen que estos datos se repiten. Esto también es consistente con lo recientemente publicado para pacientes con recaída de LBDCG tratados con rituximab antes del trasplante. Estos pacientes tienen datos de SLP inferiores a los que no habían sido

tratados con este fármaco antes (Gisselbrecht *et al*, 2010). La resistencia al rituximab en pacientes previamente tratados con él ha sido investigada en muchos estudios, sugiriendo que existen señales celulares alteradas y diferentes propiedades genéticas y fenotípicas que pueden estar influyendo en esta resistencia. La cuestión de porqué el tratamiento previo con rituximab puede influir en la quimio-resistencia necesita también futuras investigaciones (Olejniczak *et al*, 2008).

Tabla 7: Principales estudios de trasplante autólogo

	Autor (año)	Pacientes	Seguimiento (meses)	RC post-trasplante	SG	SLP/SLE	MRT (%)
ERA PRERITUXIMAB	Schouten (1989)	10	2	4 (40%)	9 pacientes muertos a los 4 meses	No	No
	Freedman (1991)	18	24	12 (66%)	No	SLE 2 años: 88 % SLE 4 años: 23%	No
	Friedberg (1999)	27	36	12 (44%)	5 años: 58 %	SLE 5 años: 46%	0
	Foran (2000)	27	29	13 (45%)	Mediana 8.5 años	No	15
	Berglund (2001)	11	74	11 (100%)	6 años: 81% a 6 años	SLEv a 6 años: 57%	No
	Chen (2001)	35	52	No	5 años: 37%	SLP a 5 años: 36%	20
	Williams (2001)	50	59	32 (62%)	2 años: 64% 5 años: 51%	SLP a 5 años: 30%	18
	Andreadis (2005)	22	66	11 (50%)	Mediana 4.6 años	SLEv mediana 1.4 años	4
	Sabloff (2007)	23	91	No	5 años: 56%	SLP 5 años: 25%	4
	Ramadan (2008)	33	21	75% (CR+PR)	5 años: 52%	SLEv 5 años: 33%	No
	Smith (2009)	25		92% (CR+PR)	3 años: 64%	3 años: 59%	No
	Kasamon (2011)	12	42	91% (CR+PR)	5 años: 58%	5 años: 33%	8
	Eide (2011)	37	75	18 (60%)	5 años: 47%	5 años: 32%	0
ERA RITUXIMAB	Reddy (2012)	44			5 años: 62%	SLP 5 años: 45%	no
	Villa (2013)	97	84	48 (50 %)	5 años: 65%	SLP 5 años: 55%	5
	Wirk (2014)	108			5 años: 50%	SLP 5 años: 35%	No
	Jackson (2014)	24	44	19 (79%)	5 años: 74%	SLP 5 años: 42%	0
	Blaker (2014)	28	49	20 (71%)	5 años: 49%	SLP 5 años: 22%	0
	Madsen (2015)	85	41		5 años: 67%	SLP 5 años: 60%	no
	Lerch (2015)	19	60		NR	NR	no

SLEv: supervivencia libre de evento

MRT: mortalidad relación con el tratamiento

NR: no alcanzada

Trasplante alogénico

Dado la alta tasas de recaídas que se ha visto con el trasplante autólogo y el beneficio del trasplante alogénico debido al efecto GVL, se han desarrollado una serie de estudios para explorar el papel de este tipo de trasplante en pacientes con TH. A día de hoy existe dificultad para interpretar los resultados de los estudios debido a la heterogeneidad de los mismos, de los pacientes estudiados, variación de los regímenes de acondicionamiento y la duración del seguimiento. **Tabla 8**

En 2005 Doocey *et al* presentaron los datos de 44 pacientes con LNH agresivos recaídos o refractarios (23 LBDCG, 5 linfomas T periféricos y 16 pacientes con TH). De los pacientes con TH, 6 alcanzaron RC y 8 RP. Destacar 8 muertes en este subgrupo por complicaciones del trasplante en probable relación con las terapias previas recibidas. La SG a 5 años fue del 43% para toda la serie (Doocey *et al*, 2005).

Posteriormente se publicaron los resultados de trasplante alogénico de 8 pacientes con confirmación de TH y con una mediana de seguimiento de 60 meses. La SLP y SG a 4 años fue del 56% y 66% respectivamente. La tasa de mortalidad a 100 días fue del 12,5% y la tasa de mortalidad global del 25% (Hamadi *et al*, 2008).

En otro estudio, se evaluó el papel del trasplante alogénico no mieloablativo en pacientes con linfomas refractarios, recaídos o transformados (16 con TH). Aunque muchos pacientes alcanzaron respuesta, esta fue contrarrestada por una tasa de mortalidad del 42% a 3 años. Probablemente el curso agresivo de los linfomas transformados no permite que exista el suficiente tiempo para desarrollar el efecto GVH, y por eso los peores resultados (Revzani *et al*, 2008). También se han publicado datos de 48 pacientes con LBDCG refractario/recaído tratados con régimen no mieloablativo con alemtuzumab, 18 de los cuales tenían TH. Los datos de SG y SLP a 4 años para los pacientes con TH fueron de 60% y 61% respectivamente (Thomson *et al*, 2009).

Una de las series más largas se publicó en 2008 con 40 pacientes (25 con TH y 15 con histologías mixtas) en los que se llevó a cabo un trasplante mieloablativo. La mediana de SG fue de 11 meses; la SG a 2 y 5 años fue del 43% y 33%. La tasa de recaída de la enfermedad fue alta; un 35% de pacientes desarrolló una recaída 128

días tras el trasplante. Estos resultados fueron peores que los obtenidos en la misma institución con el trasplante autólogo por la alta tasa de mortalidad en relación con el tratamiento (35% versus 10% a 5 años) (Ramadan *et al*, 2008).

Posteriormente se publicaron los datos de 46 pacientes con LNH quimio-resistentes: 18 LBDCG, 3 LB, 5 LFt, 11 LCM, 9 linfomas T. A 5 años la SG y SLP fue del 38% y 34% (para LFt la SG fue del 100%). Existían diferencias si la enfermedad estaba estable o en progresión; SG a 5 años fue 46% versus 7% ($p=0,0002$). Este estudio confirma que el trasplante alogénico es curativo para un grupo de pacientes con enfermedad quimio-resistente con enfermedad estable, por el contrario, en progresión, tiene resultados muy pobres (Hamadani *et al*, 2009).

También se han publicado datos de 19 pacientes (15 de los cuales tenían TH) sometidos a auto-alotrasplante en tandem o no, con idea de que el autotrasplante controle inicialmente el tumor hasta que comienza el efecto GVL. La OS a 4 años fue del 70% si se realizaban en tandem y del 66% si no se realizaban así (Clavert *et al*, 2010).

En resumen, el trasplante alogénico se puede incorporar como parte del tratamiento para el linfoma folicular transformado en pacientes muy seleccionado y teniendo en cuenta las altas tasas de mortalidad en relación con el tratamiento.

Tabla 8: Principales estudios de trasplante alogénico

Autor (año)	Pacientes	Edad	Terapias previas	RC+RP	SLE/SLP	SG
Doocey (2005)	16	40	2	87%	38%	43% a 5 años
Hamadani (2008)	8	56	NV	62%	56%	66% a 4 años
Rezvani (2008)	16	54	6	63%	18%	21% a 3 años
Thomson (2008)	18	46	5	83%	55%	54% a 4 años
Ramadan (2008)	25	44	3	60%	25%	33% a 5 años
Hamadani (2009)	5	47	4	80%	80%	100% a 5 años
Clavert (2010)	15	57	2	100%	68%	68% a 4 años

Radioinmunoconjugados

La RIT une la radiación directa a nivel celular del tumor y sus los efectos de los anticuerpos citotóxicos directos e indirectos. Para TH se ha estudiado tanto el uso de tositumomab (Bexxar®) como el de ibritumomab (Zevalin®). **Tabla 9**

En el año 2000 se investigó la eficacia y seguridad de I¹³¹ tositumomab en 45 pacientes con LNH de bajo grado recaído/refractario (10 LfT). La tasa de respuesta global (TRG) fue del 57% (60% para los LfT), con mediana de duración de 9,9 meses (12,1 meses para LfT)(Vose *et al*, 2000). Con el mismo fármaco también se publicaron datos de 60 pacientes con linfoma refractario (23 LfT), con TRG del 65%. Para los pacientes transformados la TRG fue del 39% con una duración mediana de respuesta de 13,9 meses. Cabe destacar que la tasa de RC en esta subpoblación fue del 13% (Kamiski *et al*, 2000).

Un estudio fase III randomizado comparó el uso de Y⁹⁰ ibritumomab con rituximab en 143 pacientes con linfoma folicular recaído/refractario o transformado. Para toda la serie la TRG fue del 74%; para el subgrupo de 13 pacientes con LfT fue del 56%. El tiempo hasta la progresión para toda la serie fue de 6,8 meses (Witzig *et al*, 2002).

Una de las series más largas evaluaba la eficacia de I¹³¹ tositumomab en 71 pacientes con TH. La TRG fue del 39% con una mediana de duración de 14,7 meses (el 24% de pacientes tuvieron respuestas de más de 12 meses) (Zelentz *et al*, 2002).

En 2004 se presentaron los datos de un estudio fase II en el que se evaluaba la eficacia de I¹³¹ tositumomab tras primera o segunda recaída de linfoma indolente o transformado. Se reclutaron 41 pacientes (7 con TH con criterios de mal pronóstico como grande volúmenes tumorales y niveles elevados de LDH). Para la serie general hubo un 76% de respuestas (49% RC y 27% RP) y para los LfT un 71% (29% RC y 43%RP). La mediana de duración de la respuesta en este subgrupo no se ha registrado si habían alcanzado RC ya que siguen en remisión a los 4 años tras la terapia (Davies *et al*, 2004).

Por todos los datos anteriormente expuestos, la FDA aprobó el uso de I¹³¹ tositumomab en pacientes con linfoma folicular recaído o refractario o con TH.

En 2005 se integraron los datos de los 5 principales estudios que llevaron a esta aprobación. El número total de pacientes fue de 250 (71 con LfT). Los pacientes habían sido tratados con una mediana de 4 líneas previas y el 50% no habían respondido al último régimen administrado (quimioterapia o rituximab). Para toda la población la mediana de seguimiento fue de 41,5 meses, con TRG y RC de 56% y 30% respectivamente. La mediana de duración de la respuesta fue de 45,8 meses sin que se hubiese alcanzado en los pacientes con RC (Fisher *et al*, 2005).

Por otro lado, como se ha comentado, la RIT puede ser integrada como parte de un régimen de acondicionamiento pre-trasplante. Esto fue evaluado en un estudio fase I en 23 pacientes tratados con I¹³¹ tositumomab seguido de altas dosis de QT y trasplante posterior. Este estudio demostró que era un esquema seguro, con RC del 57% (Vose *et al*, 2005). Estos datos se confirmaron en otro estudio en 33 pacientes tratados con Y⁹⁰ ibritumomab previo a QT y trasplante. Con RIT la SG a 2 años fue del 88% versus sin RIT que fue del 65% (Krishnan *et al*, 2006). Este mismo grupo publicó posteriormente los datos para una serie de 64 pacientes con LfT que recibieron terapia de acondicionamiento con Zevalin®, BCNU, citarabina, melfalán (Z-BEAM). La SLP a 2 años fue del 68% y la SG a 2 años del 90%, con toxicidades pulmonares e infecciosas (Mei *et al*, 2014).

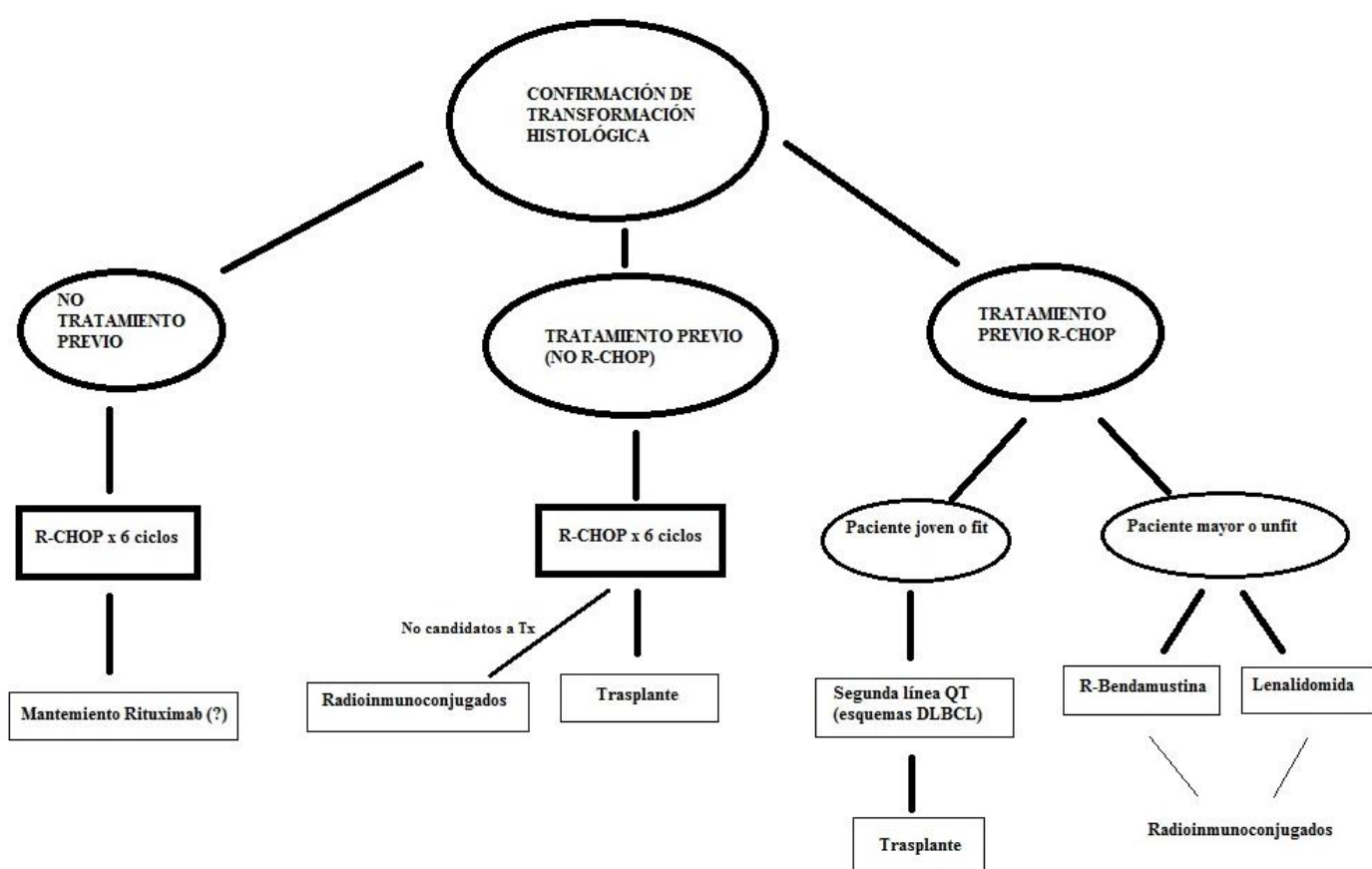
Tabla 9: Principales estudios de radioinmunoterapia

Autor (año)	Agente	Pacientes	TRG %	Respuesta (meses)	RC/RCu %	Respuesta para RC (meses)
Vose (2000)	I ¹³¹	10	60	12,1	50	14,3
Kaminsky (2001)	I ¹³¹	23	39	13,9	13	NR
Witzig (2002)	Y ⁹⁰	9	56	NV	NV	NV
Zelenetz (2002)	I ¹³¹	71	39	14,7	25	36,5
Davies (2004)	I ¹³¹	7	71	41	29	NR
Fisher (2005)	I ¹³¹	71	56	12,9	30	NR

CRu: respuestas completas no confirmadas; NV: no válido

Como resumen de todo lo descrito para tratamiento de linfoma folicular transformado se puede crear un algoritmo terapéutico en base a los tratamientos previos que ha recibido el paciente y situación general. Es necesario insistir en que para muchas de las opciones descritas existe limitada evidencia científica debido al bajo número de pacientes con los que cuentan muchos de los estudios publicados.

Gráfico 1: Algoritmo de tratamiento de la transformación histológica



3. Alteraciones moleculares en el linfoma folicular y en la transformación histológica

Patogénesis del linfoma folicular

En la patogénesis del LF quedan muchos puntos por aclarar ya que a día de hoy no se conocen todas las vías moleculares implicadas en su desarrollo. Aproximadamente el 85% de los pacientes con LF tienen t(14;18) que produce la sobreexpresión de la proteína BCL-2 (B-cell leukemia lymphoma 2), que bloquea la muerte celular programada o apoptosis, permitiendo células con una supervivencia prolongada. De todas formas, parece claro que se requieren muchos eventos genéticos para desarrollar un LF, ya que la translocación t(14;18) puede ser identificada en individuos sanos y pacientes con linfoma B difuso de célula grande (LBDCG) (Liu *et al*, 1994). La sobreexpresión de BCL-2 es prácticamente siempre el resultado de una translocación que coloca el gen *BCL-2* bajo el control de un promotor de inmunoglobulina. De estos, la t (14;18)(q32;q21) es la más frecuente y coloca a *BCL-2* bajo el control del locus de IgH, aunque existen translocaciones variantes descritas más adelante. Estas aberraciones representan errores que ocurren durante el reordenamiento del receptor de antígenos en las células normales B. En la médula ósea, en las células pre-B, el reordenamiento de segmentos de V(D)J de los loci de inmunoglobulinas (Ig) permiten la expresión IgM. Este proceso, llamado recombinación V(D)J requiere la actividad de genes *RAG1* y *RAG2* (Raghavan *et al*, 2004). Después, en el centro germinal, las células B estimuladas por antígeno desarrollan recombinación (desde IgM a IgG o IgA) e hipermutación somática (SHM). La SHM es un proceso clave de la respuesta humoral inmune, por el cual las mutaciones puntuales y pequeñas deleciones o inserciones son introducidas en las regiones variables de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas. Tanto la recombinación como la hipermutación somática requiere la activación enzimática inducida por citidina deaminasa (AID) y se sospecha que para que se lleve a cabo el desarrollo de LF se necesitan mutaciones adicionales dependientes de AID (Scherer *et al*, 2016).

Expresión de BCL-2

El gen *BCL-2* codifica una proteína de membrana de 26-kDa localizada en la membrana mitocondrial externa y el retículo endoplasmático (Korsmeyer *et al*,

1992). A diferencia de la mayoría de los proto-oncogenes, *BCL-2* tiene poca o ninguna capacidad para promover la progresión del ciclo celular o la proliferación celular, sino que reduce el umbral celular apoptótico por la inhibición de la muerte celular programada. Normalmente en las células B de centro germinal la expresión de *BCL-2* está restringida a las células que, a través del proceso de hipermutación somática, adquieren cambios en Ig con alta afinidad por antígeno. Estas células surgen a continuación como células B memoria de supervivencia larga (Núñez *et al*, 1991).

La apoptosis es una parte esencial del desarrollo embrionario, manteniendo la homeostasis en los tejidos y desarrollando el sistema inmune. Al revés, los procesos que interfieren en una apoptosis normal promueven la supervivencia celular y potencialmente, la oncogénesis. La apoptosis está regulada por unos factores pro-apoptóticos y anti-apoptóticos. El LF muestra un aumento en la expresión de factores anti-apoptóticos (*BCL-2*, *BCL-XL* y *MCL1*) (Cory *et al*, 2002) y valores bajos o indetectables de factores pro-apoptóticos (*BAX* y *BAD*) (Cory *et al*, 2005). Este desbalance promueve la supervivencia celular.

Se sabe que las translocaciones *BCL-2/IgH* pueden ser detectadas en una proporción baja (una célula de cada 1000) en los centros germinales de individuos normales, algunos de los cuales nunca desarrollarán LF (Limpens *et al*, 1991). De forma similar, se pueden detectar t(14;18) en sangre periférica de individuos sanos (Dölken *et al*, 1996). Se ha visto que los individuos portadores de la translocación tenían una población de células B de centro germinal atípica que tenía características fenotípicas de LF (Roulland *et al*, 2006). Estas observaciones indican que la translocación *BCL-2/IgH* no es suficiente para causar LF y que otros eventos genéticos o epigenéticos están influyendo en su desarrollo.

En la mayoría de los casos, LF está asociado con una translocación entre el brazo largo del cromosoma 18, el sitio del oncogén *BCL-2* (18q21), y una de las 3 localizaciones de los genes de inmunoglobulinas (Blommfield *et al*, 1983):

- 1) El gen de la cadena pesada de Ig en el cromosoma 14, resultando la $t(14;18)(q32;q21)$ que aparece en el 85% de los LF.
- 2) El gen de cadena ligera kappa en el cromosoma 2, resultando $t(2;18)(p11;q21)$ el cual no es frecuente pero se considera un equivalente biológico.
- 3) El gen de cadena ligera lambda del cromosoma 22, resultando $t(18;22)(q21;q21)$ que tampoco es frecuente pero también se considera un equivalente biológico.

La consecuencia de estas translocaciones es la presencia de células con altos niveles de proteína BCL-2, resultado una mayor transcripción y por tanto, mayor expresión de la proteína.

Casos BCL-2 negativos

Menos del 10% de los LF no presentan translocaciones de *BCL-2* y no expresan la proteína BCL-2 (Schraders *et al*, 2005). Estos tumores tienen perfiles de expresión génica que son distintos de los tumores que sí lo expresan y pueden ser una entidad clínico-patológica diferente (Leich *et al*, 2009). La negatividad de BCL-2 se observa comúnmente en el grado 3B, en el que el tumor se compone de láminas sólidas de centroblastos que crecen con un patrón folicular. El curso clínico del LF grado 3B es más similar al LBDCG que al LF grados 1, 2 o 3A. Un estudio usando citogenética demostró que estos subgrupos incluían: tumores con $t(14;18)$ afectando a *BCL-2*, tumores con reordenamiento 3q27 afectando a la proteína BCL-6 (B-cell leukemia/lymphoma 6) y tumores sin ninguna de estas características.

La expresión de BCL-6 parece jugar un papel en la patogénesis de los LF grado 3B. BCL-6 codifica un factor de transcripción que es esencial para el desarrollo de las células B de centro germinal. La expresión de *BCL-6* en células B normales controla genes como *TP53*, el cual activa la apoptosis en respuesta al reordenamiento fisiológico del ADN del centro germinal.

Otras lesiones genéticas

Aproximadamente el 90% de los LF presentan alteraciones genéticas además de la translocación $t(14;18)$. Las más frecuentes serían la pérdida de 1p, 6q, 10q y 17p y ganancia de los cromosomas 1, 6p, 7, 8, 12q, X y 18q/dup. Por ejemplo, se ha

estudiado que las deleciones del cromosoma 6 ocurren en un 20% de los casos y se asocian con peor pronóstico y supervivencia (Cheung *et al*, 2009).

Microambiente tumoral

El microambiente tumoral, específicamente el microambiente inmunológico comparando células T y células dendríticas puede influir en el desarrollo y progresión del LF (Bende *et al*, 2007). Se ha sugerido que el LF es una enfermedad inmunológicamente funcional en la que la interacción entre las células tumorales y el microambiente determina el comportamiento clínico.

El papel del microambiente está apoyado por estudios de expresión génica y de inmunofenotipo que han correlacionado la supervivencia del paciente con los patrones de expresión de las células inmunes que acompañan al linfoma (Alvaro *et al*, 2006)(Glas *et al*, 2007).

La comunicación entre las células tumorales y el microambiente precisa citoquinas, receptores de citoquinas y moléculas de adhesión, el equilibrio entre todos ellos determina el crecimiento o la inhibición tumoral (Laurent *et al*, 2011). La comparación en la expresión génica entre células de LF y células B normales de centro germinal ha encontrado diferencias en los mediadores del ciclo celular, en los factores de transcripción, en las citoquinas y en los genes relacionados con las interacciones intercelulares. Estas diferencias son concordantes con un papel del microambiente en la patogénesis tumoral (De Jong *et al*, 2009).

Existen distintos trabajos que han intentado demostrar el importante papel del microambiente en la patogenia del LF (Dave *et al*, 2004). Se han encontrado dos tipos de respuesta inmune: la 1 y la 2. El patrón de respuesta inmune tipo 1 está constituido por un grupo de genes (*CD 7*, *CD8B1*, *ITK*) que reflejan la presencia de gran cantidad de determinadas poblaciones de linfocitos T. En cambio, el patrón de respuesta inmune tipo 2 refleja un infiltrado carente de linfocitos T y rico en macrófagos y células dendríticas. Así, la firma génica “respuesta inmune 1” se asoció a evolución favorable con supervivencia prolongada, mientras que la firma “respuesta inmune 2” se asociaba a peor supervivencia. Curiosamente el patrón referido a la propia célula tumoral no parece influir en el pronóstico.

Existen dos hipótesis que explican las diferencias en la supervivencia: el buen pronóstico del patrón de respuesta tipo 1 reflejaría una respuesta inmune efectiva frente al tumor a través de los linfocitos T o que el pronóstico desfavorable del tipo 2 refleja independencia de las células tumorales de su microambiente y mayor facilidad para ganar nuevas alteraciones genéticas.

Patrones de transformación histológica

Se han ido cambiando los criterios morfológicos de transformación histológica ya que inicialmente la progresión de un grado 1 a un grado 2 o 3 o el desarrollo de un patrón de crecimiento difuso se consideraba una TH. Actualmente la definición de transformación está basada en el incremento de células grandes infiltrando difusamente los ganglios y borrando la arquitectura folicular. La presencia simultánea de LF y LBDCG en la misma muestra representa una histología compuesta, un hecho que implica pero no confirma la transformación de un LF y una probable relación clonal entre ambos tumores. Consecuentemente algunos investigadores requieren al menos un intervalo de 6 meses entre el diagnóstico inicial de LF y el de LBDCG para definirlo inequívocamente como una transformación (Lossos *et al*, 2011). Además de la biopsia como evidencia de progresión, una definición inequívoca de transformación requiere la demostración de una relación clonal entre el LF original y la neoplasia subsiguiente, que se puede establecer mediante técnicas de biología molecular.

La gran mayoría de las transformaciones histológicas son a LBDCG, apareciendo gran cantidad de blastos. La gran mayoría de casos muestran un inmunofenotipo de centro germinal. También existe una minoría de pacientes que desarrollan enfermedades agresivas similares al linfoma de Burkitt con un patrón de crecimiento en cielo estrellado y una proliferación de células de mediano y gran tamaño con alta tasa mitótica. Estos casos característicamente muestran 2 translocaciones: *BCL-2/IgH* y *MYC/Ig* (Haralambieva *et al*, 2005). El espectro morfológico de los llamados “double hit lymphomas” (DHL) se parece al de los linfomas Burkitt (LB) con el patrón de cielo estrellado pero con un polimorfismo nuclear. La expresión de BCL-2 es uniformemente alta, lo que excluye el

diagnóstico de LB *de novo*. Los DHL se incluyen entre los linfomas B inclasificables con rasgos entre el LBDCG y el LB.

Aunque la mayoría de los DHL son descubiertos *de novo*, existen casos descritos de DHL aparecidos en el contexto de una transformación histológica en los que el efecto de *MYC* (proliferativo) se une con el de *BCL-2* (antiapoptótico) para dar lugar a tumores muy agresivos y con corta supervivencia (Ning *et al*, 20123). Se presupone que en los LF que acaban transformándose hasta esa variante primero tiene lugar la translocación *BCL2* y posteriormente adquieren translocación *MYC*, la cual es un evento oncogénico importante en la TH. Se ha demostrado que la translocación *BCL2* incrementa la supervivencia de la célula y evita la apoptosis, lo que la predispone a adquirir aberraciones cromosómicas secundarias (Xu *et al*, 2013). Las tasas de DHL en pacientes con LBDCG varía del 11 al 3%, pero en linfomas foliculares transformados se han reportados tasas del 21% (Pedersen *et al*, 2012). También se ha visto que en los DHL disminuye la expresión de CD20 (Wu D *et al*, 2010).

En los casos raros de LF transformado a leucemia/linfoma linfoblástico aguda (LLA) la doble translocación *MYC* y *BCL-2* se encuentra presente y el curso de estos pacientes es fatal en un corto periodo de tiempo (Le Gouill *et al*, 2007). La presentación en adultos de la LLA suele expresar Ig de superficie y dexosinuclotidil transferasa (TdT) nuclear y se ha visto tanto en pacientes con historia previa de linfoma folicular como sin ella.

Alteraciones genéticas en la transformación

Desde hace más de 10 años existen múltiples estudios que han intentado encontrar genes relacionados con la transformación histológica de los LF. Se han descrito anomalías citogenéticas (Martinez-Climent *et al*, 2003), mutaciones de *TP53* (Davies *et al*, 2005), inactivación de *CDKN2A* y *CDKN2B* (Elenitoba-Johnson *et al*, 1998), y mutación de *MYC* (Lossos *et al*, 2002). También se han registrado amplificaciones y mutaciones de *BCL-2*, mutaciones de *BCL-6* y amplificaciones de *c-REL*. Sin embargo la falta de concordancia entre todos los resultados encontrados probablemente reflejaba la falta de número de muestras pareadas en cada estudio.

TP53 es un gen supresor de tumores localizado en 17p13.1 que codifica un factor de transcripción relacionando con la respuesta celular al estrés. Tras un daño sobre el ADN sus niveles aumentan para parar a la célula en la fase G1 del ciclo o para inducir apoptosis si los daños son demasiado importantes y no se pudiesen reparar. Las mutaciones de *TP53* en LF son raras pero en LBDCG aparecen hasta en el 20% de los casos y se asocian con un curso clínico más agresivo y una corta supervivencia (Lossos *et al*, 2003). Existen distintos estudios que detectaron mutaciones en hasta el 60% de los casos de LBDCG tras una TH, además, en áreas del linfoma indolente inicial se encontraron ya las mutaciones de *TP53* lo que sugiere que la mutación precede a la transformación (Sander *et al*, 1993).

CDKN2A y *CDKN2B* son genes situados en la región 9p21 codifican las proteínas p16 y p15 respectivamente. Funcionan como inhibidores de kinasa dependientes de ciclina (CDKI), es decir, compiten con la ciclina D en la unión con CDKs inhibiendo así su activación. Esto a su vez conduce a una inhibición de la proteína del retinoblastoma (pRb) que se necesita para liberar los factores de transcripción que hacen progresar el ciclo celular a través de la fase S. *CDKN2A/B* funcionan como genes supresores tumorales y la pérdida de su función puede producir un crecimiento celular descontrolado. Existen distintos estudios que han demostrado delecciones de *CDKN2A* y *CDKN2B* hasta en el 73% de las muestras tras la TH, en la mitad de estas también se encontró una baja expresión de la proteína p16 (Lossos *et al*, 2003). La pérdida de *CDKN2A/B* parece contribuir a la transformación ya que afecta al ciclo celular y a la respuesta al daño del ADN regulada por *TP53*, contribuyendo todo ello a la inestabilidad genómica.

La proteína BCL6 es un factor de transcripción que actúa como un represor transcripcional que se expresa normalmente en las células B y en las células T CD4+ en el centro germinal. El gen se encuentra traslocado en muchos LNH pero no se ha podido demostrar que sea necesario para la transformación de LF a LBDCG. Lo que se ha visto es que las mutaciones en BCL6 son adquiridas durante la transformación pero su significado funcional no está claro (Capello *et al*, 2000).

En 2006 Davies publicó una de las series más amplia de muestras pareadas, la cual analizaba perfil de expresión genética, suplementado por el análisis genómico e inmunohistoquímico de 20 muestras de LF y su posterior transformación

histológica (Davies *et al*, 2006). Se cuantificó la expresión de mRNA con microarrays, se estudió cambios en el número de copias del genoma y con inmunohistoquímica (IHC) se confirmaron los diagnósticos y se distinguió entre LBDCG centro germinal (LBDCG-CG) de los de célula B activada (LBDCG-ABC) (usando MUM1, BCL-6 y CD10 (Hans *et al*, 2004)). Entre los resultados encontrados llamaba la atención que ninguno de los LF transformados fueron de fenotipo ABC, siendo el 89% fenotipo CG. Esta predominancia de fenotipo encaja con la teoría de que los subtipos de LBDCG indican diferentes estadios de desarrollo de la célula B. Aunque el subtipo CG parece tener mejor pronóstico, tras una TH, la diferencia pronóstica entre CG/ABC se desconoce. Otro de los resultados que llamaba la atención fue el hecho que la TH parecía ocurrir por dos vías distintas: una caracterizada por la alta proliferación y otra no. Se sabe que existen genes expresados durante la división celular, es lo que se conoce como firma proliferativa o “proliferation signature”. El subgrupo de pacientes que presentaban una alta tasa proliferativa tenían alteraciones en su firma proliferativa: mutaciones y pérdida de *TP53*, amplificación de *c-REL* y deleciones en *CDKN2A*, las cuales eran en la mayoría de los casos excluyentes entre sí. En la subpoblación sin alta tasa proliferativa se desconocía cuál era su mecanismo de TH.

Por otro lado, existen datos contradictorios sobre la expresión de *MYC* y sus genes diana. En la publicación de Davies se concluía que la desregulación de *MYC* coincidía con un incremento en la tasa de proliferación pero la proliferación descontrolada no era un evento oncogénico iniciador en todos los subgrupos de pacientes. Esto parecía coincidir con publicaciones previas que encontraban bajas tasas de translocaciones, amplificaciones y mutaciones en *MYC* asociadas a TH. Ya en la publicación de Lossos *et al* en 2002 se describía un incremento en *MYC* y sus genes diana que parecía ser más una consecuencia, que una causa, de la pérdida en el control de crecimiento y la respuesta acelerada a la proliferación celular en la TH (Lossos *et al*, 2002). También en esta serie aparecía un segundo grupo de casos transformados en los que existía una baja expresión de *MYC*. Se postuló entonces que podía deberse a alteraciones en las vías de muerte celular ya que *MYC* podía inducir apoptosis en algunos casos y por tanto, su expresión disminuida podía estar también influyendo en la TH. Parece por tanto que en una TH pueden encontrarse tanto pérdida de control en la proliferación asociado al aumento de

MYC como la pérdida de mecanismo apoptóticos asociados con descenso en la expresión de *MYC*.

NF-KB (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas) es un complejo proteico que controla la transcripción de genes diana. NF-KB se encuentra en la mayoría de tipos de células animales y está implicado en la respuesta celular frente a estímulos como el estrés, las citoquinas, radiación ultravioleta y antígenos bacterianos o virales. NF-KB juega un papel clave en la regulación de la respuesta inmune debida a la infección (las cadenas ligeras kappa son componentes cruciales de las inmunoglobulinas). La regulación defectuosa de NF-KB está relacionada con el cáncer, enfermedades inflamatorias y autoinmunes, shock séptico, infecciones virales o un desarrollo inmune inadecuado. Recientemente se han estudiado 6 genes relacionados con NF-KB como: *BTK*, *IGBP1*, *IRAK1*, *ROCK1*, *TMED7-TICAM2* y *TRIM37*. Se ha visto que los niveles altos de expresión de *IRAK1* y *TRIM37* se asocian con la presencia de transformación histológica (Brodtkorb *et al*, 2014).

También se han intentado identificar genes y vías que pudiesen ser dianas terapéuticas tras una TH. En el año 2003 utilizando el análisis de expresión mediante microarrays se identificaron 113 genes implicados en la TH (de estos 67 mostraban aumento de expresión y 46 disminución de expresión)(Elenitoba-Johnson *et al*, 2003). La expresión de la proteína quinasa p38MAPK era claramente distinta en el subgrupo de pacientes con TH. Se examinó entonces el efecto de inhibir la vía de p38MAPK usando el inhibidor SB203580 en líneas celulares y en modelos *in vivo* de ratón. Se observó que las líneas celulares disminuían su viabilidad lo que apoyaba la teoría de que la desregulación de p38MAPK y sus genes diana jugaba un papel en la progresión del linfoma.

Por otra parte se ha observado que existen genes que disminuyen su expresión tras una transformación y son los asociados a células T o células dendríticas (que podría relacionarse con el papel del microambiente tumoral en la TH). Así mismo se ha encontrado un aumento en la expresión de genes glicolíticos (*HK2*, *PGM* y *LDHA*). Esto refleja una producción energética desde la fosforilación oxidativa a la glicólisis aeróbica o efecto Warburg (Peruzzo *et al*, 2016).

En resumen, se ha visto la relación entre genes como *MYC*, *TP53*, *CDKN2A/B* y otros en la transformación histológica de los linfomas foliculares. También que vías específicas como las que influyen en c-MYC, MAPK y NFkB están relacionadas con esta alteración que produce un aumento en la agresividad del linfoma. Lo que sí parece claro es que el proceso de una transformación a LBDCG es complejo y se necesita la participación de numerosas vías moleculares.

Recientemente se han publicado dos estudios en los que se han analizado mediante secuenciación masiva las mutaciones y los patrones de evolución que pueden estar implicados en la TH.

En el estudio de Paqualucci *et al*, mediante secuenciación de todo el exoma y análisis de número de copias se intentaba discriminar entre un modelo de transformación lineal (el clon predominante en la LFt mantiene todas las lesiones del clon predominante en el LF inicial) o un modelo de transformación divergente (existen lesiones únicas del clon dominante del LF inicial o del LFt posterior). También se estudiaba que cambios genéticos son cruciales para que exista una TH (“genetic drivers”) y buscaba la relación entre un LBDCG *de novo* y un linfoma folicular transformado (LFt). Para todo ello se analizaron muestras de 12 pacientes con LF y posterior LFt. En este estudio se comprobó que la mayoría de los casos de LFt tenían mutaciones únicas y alteraciones en el número de copias que no estaban presentes en el linfoma folicular inicial (83% de los pacientes) lo que indicaba que el modelo de evolución divergente podía explicar la TH. En cuanto a las lesiones genéticas compartidas por el LF inicial y el LFt caben destacar la presencia de mutaciones en genes remodeladores de la cromatina (*MLL2*, *EZH2* o *CREBBP*) o genes moduladores de la apoptosis (translocaciones y mutaciones de *BCL2*, deleciones o mutaciones inactivadas de *FAS*). También se estudiaron las lesiones asociadas específicamente con LFt y se encontraron sobre todo: pérdida de *CDKN2A/B*, desregulación de *MYC* y mutaciones y deleciones en *B2M* y *CD58*. Estos últimos son genes que se relacionan con el control del sistema inmune a través de los linfocitos T citotóxicos y las células natural killer permitiendo que las células tumorales escapen del control inmune y se favorezca el proceso de transformación. Finalmente se ha encontrado que el LFt y el LBDCG *de novo* representan enfermedades distintas con alteraciones comunes (reordenamiento

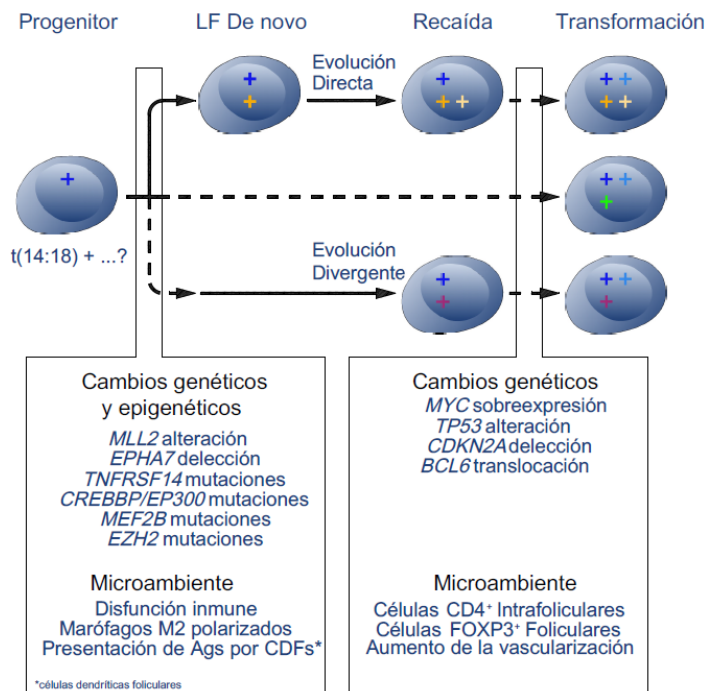
de *BCL2*, amplificaciones de *REL*, mutaciones de *EZH2* y de *TNFRSF14*) y que sobre todo existen similitudes con el LBDCG tipo CG (Pasqualucci *et al*, 2014).

Otro estudio similar llevó a cabo la secuenciación de 10 muestras pareadas de LF y LFt. Se encontraron eventos claves que podrían estar implicados en el inicio de la tumorigénesis y posterior transformación. Se identifican mutaciones recurrentes en los genes de histona H1 en el 28% de la serie, con mutaciones sobre todo en *HIST1H1C* y *HIST1H1E*. También mutaciones descritas previamente en linfomas de centro germinal que contribuyen a la activación y supervivencia celular (Baus *et al*, 2009): componentes de la vía de JAK-STAT incluyendo *STAT6* (12%) y *SOCS1* (8%). Otra de las vías implicadas sería la antiapoptótica de NF-KB, que se ha visto también alterada en LBDCG subtipo ABC. Se han identificado así mismo mutaciones en genes importantes para el desarrollo de la célula B en el 17% de la cohorte, sobre todo en el factor de transcripción detectado en leucemia linfoblástica *EBF1*. El análisis longitudinal realizado permitió identificar mutaciones “driver” tempranas en genes reguladores de cromatina (*CREBBP*, *EZH2* y *KMT2C* -*MLL2*-) mientras que mutaciones en *EBF1* y reguladores de la vía NF-KB (*MYD88* y *TNFAIP3*) aparecieron a la transformación (Okosun *et al*, 2014).

En resumen, parecen existir eventos iniciales que producen mutaciones genéticas en reguladores epigenéticos como *CREBBP*, *EZH2* y *MLL2* y que se podrían encontrar desde el inicio en las células progenitoras que más tarde darán lugar a la transformación. Por otro lado parecen existir otras alteraciones específicas de la transformación como mutaciones o deleciones de *TP53*, deleciones homocigotas o heterocigotas de *CDKN2A/B*, amplificaciones de *REL* o alteraciones de *MYC*. Más recientemente también se han descrito asociados a transformación las mutaciones somáticas que afectan a los reguladores de la vía NF-KB sobre todo *MYD88* y *TNFAIP3*. Otros genes relacionados con la SHM como *BCL6*, *MYC*, *PAX5* y *PIM1* también están aumentados en la transformación. También lo están genes que promueven la evasión inmune como *TNFRSF14*. Lo importante es que con los avances en el conocimiento de los eventos que llevan a la TH se puede hipotetizar que la transformación ocurre a través de la adquisición de diversas aberraciones genéticas que hacen que los LFt sean mucho más complejos genéticamente que las muestras obtenidas en el LF inicial.

Gráfico 2: Patogénesis del linfoma folicular “*Pathogenesis of follicular lymphoma*”

Kridel et al 2012:



Merece la pena ahondar en las diferencias entre la teoría de la evolución lineal y la teoría de evolución divergente de la TH. Durante mucho tiempo se ha asumido la primera como válida para explicar este proceso; se asumía que la TH reflejaba la aparición de un clon agresivo dentro de todas las células de la población de LF. Esta teoría actualmente puede ser una simplificación porque tanto el LF como el LFt pueden también provenir de célula inmadura progenitora común (CPC). En recientes investigaciones se ha desarrollado la hipótesis de que un progenitor B común da lugar a una subpoblación celular clonalmente relacionado pero genéticamente distinta.

La validación de este concepto ha surgido de distintos estudios recientes. El primero rastreó la historia clonal de las células tumorales estudiando mutaciones introducidas en la región variable μ de la $der(14)t(14;18)$ durante la fase temprana en la recombinación del cambio de clase. Se observaron frecuentes variaciones intraclonales sugiriendo que el cambio de clase permanece activo tras la adquisición del fenotipo transformado. Las mutaciones mostraban dos vías distintas de progresión. La primera vía era una evolución directa y rápida desde un

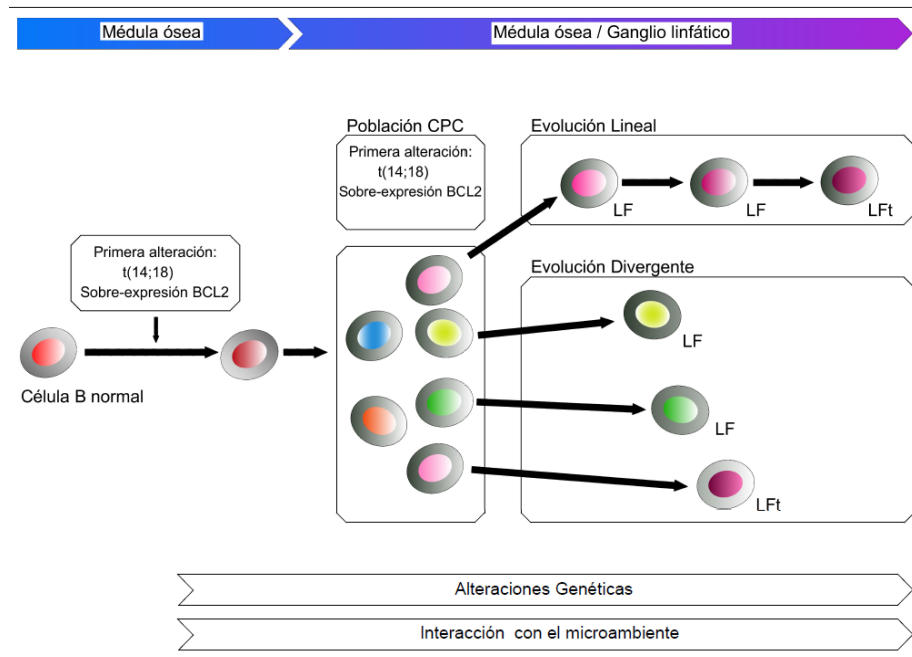
clon dominante. La segunda era indirecta, surgiendo desde subclones tempranos normalmente tras años de remisión (Ruminy *et al*, 2008).

Se han obtenido similares conclusiones tras analizar los patrones de SHM. Se investigó las SHMs en la región variable de la cadena pesada de las inmunoglobulinas de pacientes con LF y LFt. Posteriormente se desarrollan 3 teorías sobre las células progenitoras (CPC). La primera teoría fue que una CPC sobrevive a las diferentes terapias y coexiste con las células del LF y del LFt en el centro germinal. La segunda teoría fue que las CPC están solo presentes en el centro germinal con el LF y que el clon que da lugar a la transformación es independiente de este precursor. Para finalizar la tercera teoría era que el CPC iba desde el ganglio linfático a la médula ósea donde permanecía hasta migrar de nuevo y dar lugar al LF o LFt (Carlotti *et al*, 2009).

Se ha visto que puede existir una progresión lineal en algunos pacientes mientras que en otros, las alteraciones iniciales no están en la TH. Incluso en la TH se encuentran alteraciones nuevas, indicando que las células de la recaída no eran descendientes directas de las originales. Esto llevó a pensar que podía existir una CPC que escapa de los tratamientos iniciales y da nuevos clones celulares distintos de los originarios (Eide *et al*, 2010).

Estos modelos de evolución han ganado en complejidad con los nuevos métodos de secuenciación masiva que permiten analizar todo el exoma y reconstruir la relación entre el LF y LFt. Como se ha comentado anteriormente, el estudio de Pasqualucci *et al* 2014 demostró una evolución divergente y el de Okosun *et al* 2014 demostró dos vías de evolución tumoral, divergente y lineal. De todas formas hoy en día se admite que la vía predominante en la aparición de la TH es la evolución divergente a través de una CPC (Okosun *et al*, 2016). Esto además se ha visto apoyado por dos publicaciones que han encontrado que se transfirieron CPC tumorales a pacientes receptores de trasplante autólogo. Las biopsias que se llevaron a cabo en donante y receptor mostraron que el linfoma desarrollado posteriormente en ambos era similar en las alteraciones genéticas (BCL2-IgH) y mutaciones somáticas (Carlotti *et al*, 2009)(Weigert *et al*, 2012). Así se cree que la población progenitora inicial puede permanecer latente durante años y acabar desarrollando la enfermedad posteriormente.

Gráfico 3: Las vías de transformación en el linfoma folicular “The routes for transformation of follicular lymphoma” Okosun et al 2016:



Microambiente tumoral en la transformación

La importancia del microambiente en la TH se ha demostrado usando métodos como la expresión génica, al demostrar que la naturaleza del microambiente predice la supervivencia y puede influir en la respuesta a las terapias y en el riesgo de transformación (Yang *et al*, 2012).

En el LF los genes y proteínas expresadas en el infiltrado de células T acompañantes y en los macrófagos parecen ser predictores de respuesta (Glas *et al*, 2007). Existen estudios que han analizado las características del infiltrado tumoral linfocitario (ITL) y su impacto en la supervivencia de los pacientes así como en el tiempo hasta la transformación histológica (Kiaii *et al*, 2013). En estos estudios se demuestra que cambios en el número, porcentaje e intensidad de la expresión de genes como *PMCH*, *ETV1* o *NAMPT* de las células CD4 y CD8 que forman el ITL influyen en el pronóstico de los enfermos.

Las células T reguladoras (T reg) son generadas por estimulación antigénica. Se ha demostrado que Foxp3 es un regulador transcripcional implicado en el desarrollo y función de las células T reguladoras por lo que se utiliza como marcador

específico de estas. Numerosos estudios han encontrado que las células T reg son capaces de suprimir otras células inmunitarias como células B o natural killer, influenciando varios tipos de respuesta inmune como la antimicrobiana o la respuesta inmune antitumoral. Además de su relevancia biológica las T reg tienen relevancia clínica en el LF. Por inmunohistoquímica, Carreras *et al* estudiaron una cohorte de 97 LF y encontraron que las células Foxp3 T reg estaban presentes en distinta frecuencia pero en todos los pacientes (Carreras *et al*, 2006). Parece que un bajo número de T reg se correlaciona con enfermedad refractaria, transformación histológica e histología agresiva. Encontraron que un alto número de T reg predicen aumento de supervivencia en LF, un resultado que se ha encontrado también en otros estudios (Tzankov *et al*, 2008). En esta línea, Farinha *et al* llevaron a cabo un estudio con 105 pacientes con LF avanzado quienes fueron tratados con QT y RT (Farinha *et al*, 2010). Los autores encontraron que el contenido de T reg no impactaba en la supervivencia pero el patrón de distribución de Foxp3+ T reg sí que se correlacionaba con los resultados. Los pacientes con T reg localizadas peri o intrafolicularmente desarrollaban un elevado riesgo de transformación con supervivencias más cortas, un resultado que ya se había encontrado en otros estudios (Lee *et al*, 2006). De forma conjunta estos resultados sugieren que la arquitectura del microambiente y particularmente la *localización* de las T reg tiene impacto en la historia natural de los pacientes con LF.

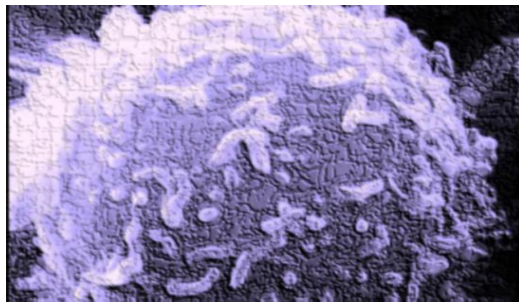
Por otro lado existen los llamados macrófagos asociados al tumor (MAT) que inhiben la inmunidad antitumoral secretando citokinas supresoras como TGF- β , promoviendo la angiogénesis o expresando factores de crecimiento que aumentan el crecimiento tumoral (Schmieder *et al*, 2012). Clínicamente se ha visto que un aumento en el número y/o densidad de los MAT intratumorales se correlaciona con la progresión y pronóstico en la mayoría de los tumores, incluyendo los linfomas (Bingle *et al*, 2002). También el aumento de células CD68+ llamadas macrófagos asociados a linfoma, se ha asociado con disminución en la supervivencia de los pacientes con LF (Dave *et al*, 2004).

En resumen, el infiltrado inflamatorio no específico (macrófagos CD68+) parece estar implicado en el control del crecimiento y la expansión de las células tumorales mientras que el infiltrado inmunitario específico (CD4 y CD8 +) tiene

que ver con la respuesta del huésped contra el tumor (Álvaro *et al*, 2010). Ambos sistemas están asociados con la capacidad de diseminar de las células tumorales y se refleja en la alta infiltración de linfocitos T observados en los LF con regresiones espontáneas, así como el número bajo de células T observadas en la transformación histológica (Glas *et al*, 2005).

Parecen existir dos modelos que explican como el microambiente tumoral puede estar implicado en la linfogénesis; uno que defiende que el microambiente estimula la proliferación (o bloquea la apoptosis) directamente y otro que considera que lo hace compensando los efectos antitumorales inmunológicos. Existen datos que apoyan ambas hipótesis aunque los estudios de los mecanismos exactos siguen siendo contradictorios (Kridel *et al*, 2012). También el microambiente puede afectar a la expresión de AID en las células del LF, lo que parece ser una mutación que facilita la TH, por lo que el microambiente puede de esta forma regular directamente como emerge un subclon agresivo.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



HIPÓTESIS

Existen factores clínicos y moleculares iniciales en el linfoma folicular predictivos de transformación histológica

OBJETIVOS

- Objetivos principales

El objetivo del proyecto de investigación es doble:

- Demostrar que existen factores clínicos presentes en el momento del diagnóstico del linfoma folicular relacionados con la aparición posterior de una transformación histológica.
- Encontrar características moleculares diferenciadoras en las biopsias iniciales del linfoma folicular que sufre una transformación frente a los linfomas de largo seguimiento que no sufren este evento.

- Objetivos secundarios

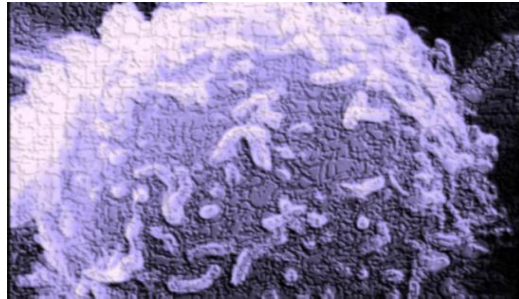
Analizar la frecuencia de transformación histológica en nuestro país a través del registro de pacientes tratados por el Grupo Oncológico para el Tratamiento y Estudio de Linfomas (GOTEL), así como las características de su evolución en el tiempo. Analizaremos si la población estudiada presenta características generales concordantes con una población representativa de esta enfermedad.

A partir de un exhaustivo análisis clínico los objetivos secundarios han sido estudiar en la era rituximab los factores implicados con la enfermedad o con los tratamientos que puedan estar influyendo en la supervivencia de los pacientes una vez que estos ya han sufrido una transformación histológica.

- Supervivencia global de la serie con transformación frente a la serie general que no lo presenta
- Supervivencias tras la transformación
- Características clínicas previas y posteriores a la TH y valor estadístico de las mismas
- Tratamientos recibidos en los pacientes con TH e impacto en la supervivencia

- Análisis detallado de toxicidades, respuestas y progresiones
- Influencia en la supervivencia de transformación precoz o tardía
- Estado de los pacientes con y sin transformación
- Análisis de diferencias clínicas y de supervivencia en los pacientes transformados con muestra y sin muestra histológica
- Factores pronósticos en el momento de la transformación
- Identificar posibles marcadores moleculares predictivos de transformación en LF por medio de secuenciación masiva, tanto en lo referente a número de mutaciones como la presencia de genes concretos

MATERIAL Y MÉTODO



1. Diseño del estudio

Se ha llevado a cabo un estudio de cohortes, multicéntrico y prospectivo en un grupo de 1073 pacientes diagnosticados de linfoma folicular que han sido tratados en 39 hospitales miembros del grupo GOTEL (Grupo Oncológico para Tratamiento y Estudio de Linfomas). Este es un grupo cooperativo formado por una red de servicios médicos de Oncología de España, dentro de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). Esto ha garantizado la inclusión de una cantidad adecuada de pacientes, la estandarización en los tratamientos (incluyendo ensayos clínicos) y el seguimiento clínico adecuado. Los pacientes fueron incluidos desde 1990 hasta 2016, recogiendo los datos y centralizándose la recepción de muestras histológicas en el Hospital Universitario Puerta de Hierro de Majadahonda (HUPHM).

2. Población

La población de estudio fueron pacientes diagnosticados de linfoma folicular en cualquier estadio y con un seguimiento mínimo de 6 meses para poder asegurar el diagnóstico de transformación histológica si esta sucedía.

Criterios de inclusión

- Pacientes con linfoma folicular grado 1-3A
- Registrado a lo largo del seguimiento si existía sospecha de transformación histológica
- Confirmación histológica de TH siempre que se pudiese realizar
- Período mínimo de 6 meses entre el diagnóstico de linfoma folicular y transformación histológica

Criterios de exclusión

- Linfoma folicular grado 3B
- Co-diagnóstico de LF y LBDCG en la muestra inicial

3. Identificación de transformación histológica

En el momento en que una transformación histológica era diagnosticada, se solicitaba el envío de la muestra de diagnóstico inicial y la muestra de la transformación histológica para revisión en nuestro centro.

Si la transformación histológica era sospechada clínicamente debía cumplir los siguientes criterios:

- Deterioro del estado general
- Rápido crecimiento de adenopatías que podían estar asociadas con dolor
- Afectación nueva de órganos no frecuentes (sistema nervioso central o hígado)
- Aumento brusco y llamativo de LDH
- Desarrollo de nuevos síntomas B
- Aparición de hipercalcemia

Por tanto, la confirmación de la transformación se realizó bien por AP o criterios clínicos en caso de no poder recoger una muestra.

4. Definición de las variables

Pacientes y características clínicas

Se ha obtenido el consentimiento informado de todos los participantes tras una explicación de la naturaleza del estudio, tal como ha sido aprobado por los comités éticos de los hospitales. Los siguientes datos clínicos y de laboratorio se han recogido al diagnóstico:

- Sexo
- Edad
- Fecha de diagnóstico de linfoma folicular
- Aspectos exposicionales tóxicos y profesionales
- Antecedentes personales infecciosos

- Antecedentes oncológicos
- Criterios en el momento de diagnóstico de linfoma folicular
 - Grado (1, 2 o 3A)
 - Origen (nodal o extranodal)
 - Estadio (I-IV)
 - Síntomas B
 - Masa bulky, definida como lesión > 10 cm
 - Afectación visceral (si existía detallar su localización)
 - Afectación de médula ósea
 - Hemoglobina (≥ 12 gr/dL o menor)
 - Áreas ganglionares afectas (≤ 4 áreas o más)
 - LDH (normal o elevada)
 - FLIPI (Bajo con puntuación 0-1, intermedio 2 y alto con 3-5)
 - ECOG
 - Beta2 microglobulina (normal o elevada)
 - Afectación de médula ósea
 - Síntomas B
 - Localizaciones extraganglionares
- Tratamiento para linfoma folicular
 - Esperar y ver
 - Quimioterapia (esquema utilizado, número de ciclos, toxicidades)
 - Radioterapia (dosis y campo radiado)
 - Rituximab de mantenimiento (duración)
 - Radioinmunoconjugados

- Trasplante autólogo y alogénico (purga si/no, acondicionamiento)
- Si existía transformación: criterios en el momento de la transformación histológica
 - Forma de debut de transformación (síntomas nuevos, revisión normal)
 - Estadio (I-IV)
 - Síntomas B
 - Masa bulky, definida como lesión > 10 cm
 - Afectación visceral (detallar tipo si existía)
 - Afectación médula ósea
 - Hemoglobina (≥ 12 gr/dL o menor)
 - LDH (normal o elevada)
 - Beta2 microglobulina (normal o elevada)
- Tratamiento para la transformación
 - Quimioterapia (esquema utilizado, número de ciclos, toxicidades)
 - Radioterapia (dosis y campo radiado)
 - Rituximab de mantenimiento (duración)
 - Radioinmunoconjugados
 - Trasplante autólogo y alogénico (purga si/no, acondicionamiento)
- Fecha de última revisión
- Estado del paciente (vivo con/sin enfermedad o fallecido)

5. Seguimiento clínico y valoración de repuesta

Seguimiento prospectivo, empezando tras el diagnóstico y tratamiento, basado en visitas regulares (cada 3 meses durante el primer y segundo año y cada 6 meses durante el tercero y anual hasta la recaída), exámenes bioquímicos y radiológicos (TC de tórax y abdomen, galio, RMN o PET). La respuesta al tratamiento se basa en criterios clínicos, radiológicos y patológicos, de acuerdo con el criterio de la International Workshop Response Criteria Guidelines. La respuesta completa (RC) fue definida como la completa desaparición de lesiones radiológicas presentes al diagnóstico y ausencia de nuevas lesiones. La respuesta parcial (RP) fue definida como regresión de más del 50% de las lesiones medibles y ausencia de nuevas lesiones. Enfermedad estable (EE) se definió como menos del 50% de regresión de lesiones medibles sin aparición de lesiones nuevas. Progresión se definió como aparición de nuevas lesiones o crecimiento en más del 25% de cualquier lesión inicial. Los pacientes que alcanzaron una RC no confirmada sin evidencia de progresión de la enfermedad/recaída en los primeros 3 meses del seguimiento fueron registrados como RC.

La supervivencia libre de progresión (SLP) se definió como el tiempo desde la entrada en el estudio hasta la progresión documentada del linfoma, recaída o muerte. La supervivencia global (SG) se definió como el tiempo desde la inclusión en el estudio hasta la última observación del paciente o muerte.

6. Diseño de recogida de datos

El diseño de este proyecto combina el análisis de datos clínicos con el de muestras histológicas, con el objetivo final de identificar criterios clínicos y las alteraciones moleculares relevantes en la patogenia de LF, además de aquellas con importancia pronóstica y terapéutica.

Se recogieron los datos iniciales de todos los pacientes diagnosticados de linfoma folicular en los hospitales miembros del grupo GOTEL. Se recogieron los datos de las historias clínicas con el fin de cumplimentar el Cuaderno de Recogida de Datos (CRD) diseñado a tal efecto (anexo I). Posteriormente, ante una transformación histológica, se rellenaba un cuestionario específico con todos los criterios clínicos y

pasaba a seguimiento recogiendo tratamientos administrados y evolución (anexo II). Si era posible tener una confirmación histológica, esta se remitía a nuestro centro junto con la muestra de linfoma folicular inicial. En el HUPHM se revisaban las preparaciones de anatomía patológica y se confirmaba el diagnóstico. También se pedía un hisopo bucal de los pacientes para ADN germinal.

Por otro lado se identificaron los pacientes con linfoma folicular sin transformación histológica con un mínimo de seguimiento de 5 años. De estos pacientes se solicitó también su muestra inicial a los centros correspondientes. Estas muestras fueron utilizadas para comparar alteraciones moleculares iniciales en los pacientes con o sin transformación.

Cuaderno de recogida de datos (CRD)

Los datos se recogieron en REDCap (Research Electronic Data Capture). Es una aplicación segura para crear y administrar bases de datos en línea. REDCap permite seguir la inclusión de datos y exportarlos a paquetes estadísticos como el que posteriormente se usó (Stata v14.1). Se recogieron variables demográficas, variables clínicas y analíticas, tratamientos administrados y toxicidades registradas. Si existía transformación se recogían de nuevo variables clínicas, analíticas y de tratamiento.

7. Desarrollo del estudio

El estudio se desarrolló en varias fases:

- Fase I: recogida de datos de todos los pacientes con linfoma folicular
- Fase II: identificación de las transformaciones histológicas, recogida de datos y recogida de muestras
- Fase III: análisis de datos y secuenciación masiva de las muestras de pacientes con transformación y pacientes con linfoma folicular sin transformación

8. Análisis estadístico

Análisis descriptivo

Para la descripción de variables numéricas se utilizó la media junto a la desviación estándar o la mediana y percentiles 25 y 75, según cumplimiento de la asunción de normalidad. Las variables cualitativas se describieron mediante frecuencias absolutas y relativas.

Análisis univariante

A continuación, se ha llevado a cabo un análisis univariante por medio de contrastes de hipótesis con las pruebas de chi-cuadrado de Pearson o estadístico exacto de Fisher en caso de variables categóricas y con las pruebas T-Student o U de Mann-Whitney en las numéricas, tras haber evaluado la asunción de normalidad con el test de Shapiro-Wilk e histograma.

Para comparar las características basales de los pacientes transformados según hayan sido tratados inicialmente o se haya decidido esperar y ver, se han realizado varias regresiones logísticas univariantes, ya que el bajo tamaño muestral de este grupo, no permite realizar un análisis multivariable.

También se ha realizado un análisis univariante mediante regresión logística binaria para evaluar los factores de riesgo de TH.

Análisis multivariable

Una vez establecido el análisis univariante, se ha realizado una aproximación multivariable para evaluar los factores de riesgo de TH. Para ello, se ha llevado a cabo una regresión logística, en la que la variable dependiente ha sido TH sí/no, y las variables independientes han sido aquellas que bien por su relevancia clínica o significación estadística, puedan predecir aquellos pacientes que se transformarán. Tras estimar un modelo máximo con todas las variables candidatas, siguiendo la regla empírica de introducir una variable por cada 10 eventos en la categoría de la variable dependiente con menor número de eventos; se ha llevado a cabo una estrategia de modelización hacia atrás (backward) no automática, con el fin de obtener un modelo final parsimonioso. El criterio para la eliminación de variables en los sucesivos pasos ha sido el nivel de significación fijado en 0,05. Para cada factor de riesgo, se presenta su odds ratio (OR) correspondiente junto al intervalo

de confianza al 95%. La calibración del modelo se ha evaluado mediante el test de Hosmer-Lemeshow. La calibración de un modelo pronóstico se refiere a la capacidad del modelo para predecir aquello que se observa en la realidad, comparando las frecuencias predichas por el modelo con las observadas. Una buena calibración se obtiene cuando el test de Hosmer-Lemeshow consigue un nivel de significación superior a 0,05, sugiriendo que las frecuencias esperadas y observadas no son diferentes desde un punto de vista estadístico.

Análisis de supervivencia

Se ha evaluado la SG, definida como muerte por todas las causas. Por un lado, se ha estimado para toda la muestra, y por otro, para los pacientes con TH, definiendo el momento inicial como el diagnóstico del linfoma folicular, y el momento final, la fecha del exitus o mayo de 2016 para los pacientes que siguen vivos hasta esa fecha. En caso de haber perdido el seguimiento antes del cierre del estudio, se ha censurado en la fecha de último contacto. También se ha realizado un análisis de la supervivencia global, en la muestra de pacientes TH, desde el momento de la transformación hasta fecha de exitus o mayo de 2016. Los pacientes con pérdida de seguimiento, se consideran censuras. La estimación de las curvas de supervivencia se ha llevado a cabo con el método de Kaplan-Meier.

Se ha estimado la incidencia acumulada y la tasa de incidencia de transformación, utilizando como unidad la persona-mes.

Análisis de sensibilidad

Se ha llevado a cabo en la muestra de pacientes con TH. En primer lugar, se ha realizado una comparación de las características de los pacientes antes (momento del diagnóstico de linfoma folicular) y después de la TH (momento del diagnóstico de TH), mediante el estadístico de McNemar para variables categóricas relacionadas.

También, se han estimado las curvas de Kaplan-Meier según diferentes tratamientos administrados a estos pacientes, y se han comparado con la prueba de log-rank.

Por último, se ha realizado un análisis univariante y de supervivencia global para comparar características de los pacientes con muestra histológica de transformación y sin muestra.

El nivel de significación se ha establecido en 0,05 para todos los contrastes. El software estadístico utilizado ha sido Stata v14.1 (StataCorp. 2015. Stata Statistical Software: Release 14. College Station, TX: StataCorp LP.).

9. Aspectos éticos

Siguiendo las directrices sobre estudios observacionales, el estudio ha sido evaluado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del HUPHM (anexo III).

Las pruebas de investigación que se practican se han realizado sobre muestras biológicas que normalmente son extraídas para realizar el diagnóstico o bien orientar los tratamientos.

La participación en este estudio no interfería con otros estudios o ensayos clínicos en los que los pacientes pudiesen participar.

Se ha elaborado un formulario de consentimiento informado (anexo IV) que se ha pasado a los pacientes incluidos. La colección y manejo de muestras ha seguido las indicaciones establecidas en la Ley 14/2007, de 3 de julio, de investigación biomédica.

Únicamente los investigadores conocen los datos (iniciales del paciente y número de historia) que pueden identificar a los pacientes. Las iniciales y número de historia se han separado del resto de criterios introducidos en la base de datos del estudio. El paciente ha sido identificado mediante un código numérico con la finalidad de respetar la confidencialidad de los datos personales de los pacientes, según establece la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal.

10. Alteraciones moleculares

Las muestras tumorales de tejido fresco o de parafina se han enviado al laboratorio de investigación en linfomas del servicio de Oncología Médica del Instituto de Investigación Sanitaria (IIS) del HUPHM. También han sido enviadas a nuestro laboratorio para análisis las muestras no tumorales de los pacientes.

Características de las muestras

Recogidas al diagnóstico, de los pacientes sin tratamiento, con consentimiento informado (revisado y aprobado por el CEIC del HUPHM) y seguimiento clínico. Las muestras fueron de tejido en parafina y de solo un paciente se ha obtenido muestra de tejido fresco congelado. Al menos el 70% de las células debían ser tumorales.

Se ha coordinado la revisión patológica y diagnóstica, realizándose la misma en el Servicio de Anatomía Patológica del HUPHM.

Hemos obtenido muestras válidas de 22 pacientes con diagnóstico de LF que posteriormente habían sufrido una transformación histológica y de 20 pacientes con LF sin transformación histológica.

Ultrasecuenciación o Deep-sequencing

El desarrollo de nuevas técnicas de secuenciación masiva ha permitido no solo la identificación de mutaciones no descritas previamente, si no la identificación de mutaciones en poblaciones celulares que están presentes en baja proporción. Específicamente para el cáncer, la ultrasecuenciación permite identificar mutaciones en estados neoplásicos iniciales en los cuales la presencia de la mutación no está presente en el 40% de las células (frecuencia alélica 20%) necesario para la detección por técnicas clásicas de secuenciación (Sanger). Esta nueva tecnología ya ha sido utilizada con éxito en muchos estudios. Esto es importante en tumores como el LF, con una proporción variable de células no tumorales en las biopsias ganglionares. Esta técnica secuencia una región genómica incluso cientos o miles de veces. Es especialmente útil para estudios en oncología donde requerimos una secuenciación más “profunda” para identificar las mutaciones dentro de los tumores debido a la contaminación que pueden producir

las células normales acompañantes, además de que los propios tumores contiene múltiples subclones.

Técnica de secuenciación

El ADN genómico ha sido extraído con el kit QIAamp para muestras Formalin Fixed Paraffin Embedded (FFPE) (Qiagen, UK) o con el kit truXTRA FFPE (Covaris, MA, USA), con el sonicador Covaris M220 o S220 (en colaboración con la unidad de Genómica del CNIO) de acuerdo con el protocolo del fabricante.

Para la preparación de las librerías se utiliza el sistema de enriquecimiento de las dianas de interés SureSelectXT Target Enrichment System de Agilent Technologies (CA, USA). En el diseño se incluyeron las regiones codificantes (exones) de los genes de interés (110). Se diseñó con la herramienta web SureDesign (Agilent Technologies, CA, USA). Para seleccionar los genes se obtuvo información de las bases COSMIC e ICGC así como de datos de publicaciones previas para LF y LBDCG. Todos los genes diana se detallan en el anexo V.

Para la preparación de librerías con SureSelect y posterior ultrasecuenciación del ADN es necesario fragmentarlo. Dicha fragmentación se realizó en los ultrasonificadores M220 y S220 de Covaris. Una vez preparadas las librerías de acuerdo a las instrucciones del fabricante, estas se cargan en una celda de flujo MiSeq Reagent Kit v2 (300 cycle) de Illumina (Illumina, CA, USA) y se secuencian en el secuenciador MiSeq de Illumina de la Unidad de Secuenciación y Biología Molecular del IIS Puerta de Hierro.

Análisis bioinformático

Se realizaron dos análisis independientes para cada muestra, uno con las herramientas disponibles por Variant Reporter (Illumina) y el segundo usando el alineador Burrows-Wheeler Alignment (BWA), la herramienta Picard (Broad Institute). Las variantes de un solo nucleótido se predijeron usando VarSan (Koboldt DC) seguido por Annovar (Wang K 2010).

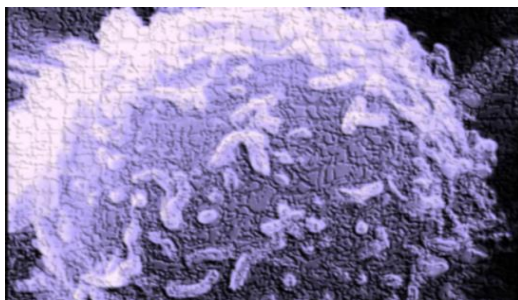
Las variantes genómicas se denominarán con SAMtools (samtools.sourceforge.net). Este flujo de trabajo identifica variantes de nucleótidos que estaban presentes en el ADN del tumor.

Validación de mutaciones con TruSeq Custom Amplicon

Basado en los genes mutados más recurrentes, además de genes con terapias dirigidas (anexo VI) se diseñó un panel TruSeq Amplicon v1.5. Las sondas para este panel personalizado fueron diseñadas con DesignStudio (Illumina).

El enriquecimiento se realizó en el ADN extraído de FFPE usando el protocolo descrito en la guía de preparación de la biblioteca de paneles para tumores de Amplicon TruSeq (marzo 2016, Illumina). Las librerías pareadas (2x151) fueron secuenciadas en MiSeq (Illumina), como se describe en el protocolo del fabricante. Se realizaron dos análisis independientes para cada muestra cómo se describió anteriormente.

RESULTADOS



Uno de nuestros propósitos fue documentar la frecuencia de transformación histológica a LBDCG y buscar factores al diagnóstico o a la progresión que pudiesen predecirlo. Describimos las características clínicas y moleculares de la serie de pacientes transformados, supervivencia y tratamientos recibidos. Por último comparamos a nivel genético los pacientes que sufrían transformación con pacientes con linfoma folicular que no llegaban a sufrir este evento.

1. Características de la serie con linfoma folicular

Se ha llevado un análisis prospectivo hasta mayo del 2016, se han recogido datos de 1073 pacientes con linfoma folicular que han sido tratados en hospitales miembros del grupo GOTEL (Grupo Oncológico para Tratamiento y Estudio de Linfomas) y centros colaboradores. Tras ajustar los pacientes eliminando aquellos sin datos completos o sin suficiente seguimiento, la serie general fue de 975 pacientes (911 pacientes sin transformación y 64 pacientes transformados).

Teniendo en cuenta que los hospitales que pertenecen a este grupo se encuentran repartidos por toda la geografía española, podemos considerar que nuestra población es representativa de esta enfermedad a nivel nacional. Los hospitales que han aportado mayor número de pacientes a nuestra base han sido el Hospital Gregorio Marañón de Madrid (17% del total), Hospital Clínico de Málaga (14%), Hospital Universitario Puerta de Hierro (11%), Hospital de Toledo (9%), Hospital Negrín de Las Palmas (9%), Hospital La Fe de Valencia (7%), Hospital Universitario de Canarias (6%), Hospital Insular de Canarias (6%) y Hospital Costa del Sol de Marbella (5%). El resto de los 39 hospitales han aportado pacientes pero en número inferior al 5%.

Los pacientes recogidos debían de presentar un LF grado 1-3A de LF de acuerdo con la clasificación de la World Health Organization (WHO). Nuestra base contiene datos demográficos, clínico-patológicos y de evolución de cada paciente. El estadiaje inicial de los pacientes incluía la realización de una biopsia de médula ósea y una tomografía axial computerizada. Se han clasificado a los pacientes utilizando el Índice Pronóstico Internacional de Linfomas Foliculares (FLIPI) y se

ha recogido la situación general de los enfermos en el momento del diagnóstico usado la escala Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG).

En el momento de recaída o progresión se llevaba a cabo una biopsia ganglionar si era posible. No se han obtenido muestras en la transformación de todos los pacientes ya que se han utilizado también para el diagnóstico criterios clínicos ya detallados previamente. De los pacientes de los que se tenían muestras al diagnóstico y en la TH se remitían estas a nuestro laboratorio para llevar a cabo la secuenciación masiva, así como para comprobar y centralizar los datos anatomopatológicos.

La base general de 975 pacientes con linfoma folicular se ha seguido durante una mediana de 4,8 años (rango intercuartílico 2,3-8,5 años, máximo seguimiento 26 años). Existía un porcentaje similar de hombres (47%) y de mujeres (53%), con una mediana de edad de 57.5 años (18-92 años). Se han recogido los datos de grado histológico en un 94% de los pacientes: grado 1 (34%), grado 2 (32%) y grado 3a (34%). También se ha analizado el origen del LF, encontrándose que la mayoría presentaban un origen nodal (84%) versus origen extranodal (16%).

En cuanto al estadio Ann Arbor, la mayoría de los pacientes de la serie general presentaban un estadio IV (47%), seguido por estadio III (27%), estadio II (14%) y estadio I (12%). Considerando 60 años como edad de corte, un 55% de pacientes eran diagnosticados con menos de 60 años y un 45% con 60 años o más.

En la serie general la mayoría de los pacientes no presentaban anemia (76% con cifras de hemoglobina de más de 12 g/dL), ni elevación de beta 2 microglobulina (64%) ni de LDH (75%), ni síntomas B (80%), ni masa bulky (76%). La mayoría de los pacientes presentaban menos de 4 áreas ganglionares afectas (58%). Con todos estos datos, el FLIPI de los pacientes fue mayoritariamente bajo-intermedio (número de variables adversas 0-2) en el 74% de los pacientes, mientras que un 26% presentaban un grupo de riesgo alto (variables adversas 3-5).

También se ha analizado la afectación de la médula ósea y en nuestra serie casi un 40% de los pacientes la presentaban. En cuanto a la afectación extranodal, la mayoría de los pacientes no la presentaban (56%), y solo un 10% tenía más de 1 afectación extranodal. Con respecto a la infección VIH, se han obtenido datos del

90% de los pacientes registrados en la base y tan solo 2 pacientes presentaban dicha infección.

En cuanto al estado general de los pacientes, el ECOG fue mayoritariamente 0 (57%), seguido de 1 (34%), 2 (6%), 3 (2%) y 4 (1%).

En cuando a los tratamientos administrados, una gran parte de enfermos han recibido rituximab (76%), sobre todo combinado con quimioterapia (73%) o también en monoterapia (3%). El 24% de los pacientes no recibió rituximab: 14% quimioterapia con antraciclinas, 7% quimioterapia sin antraciclinas, 2% observación y 1% cirugía.

Sobre tratamientos posteriores, el 22% de los pacientes a lo largo de su evolución reciben radioterapia y el 5% trasplante.

En la serie general, el 65% de los pacientes están vivos sin enfermedad, un 17% están vivos con enfermedad y un 18% han fallecido.

2. Características de la serie con transformación

En cuanto a la transformación histológica, destacar que en nuestra serie se ha registrado TH en 64 pacientes. De estos, se ha obtenido muestra en 33 de ellos tanto al diagnóstico inicial como a la transformación (52% de los pacientes). En 4 pacientes no tuvimos suficiente material ya sea en la muestra inicial para confirmar el diagnóstico de linfoma folicular, como en la muestra remitida para asegurar la presencia de una transformación histológica. Por lo tanto, al final pudimos analizar las características de 29 pacientes con linfoma folicular al diagnóstico y una posterior transformación (45%). La mayoría de ellos se transforman a linfomas B difusos de célula grande (87%), con una pequeña proporción que lo hacen a linfomas más agresivos tipo Burkitt like.

En cuanto a los 64 pacientes con transformación histológica, presentan una mediana de edad de 57 años (25-80 años), un 61% son mujeres frente a un 39% de varones. La clasificación según grado demostró que un 27% presentaban un grado 1, un 38% un grado 2 y un 35% un grado 3A. Un 94% de los pacientes presentaban un origen nodal versus un 6% con origen extranodal.

En cuanto a estadios Ann Arbor, se vio que los pacientes con transformación histológica presentaban al diagnóstico estadios más avanzados que la serie general ya que el 77% de los pacientes presentaban estadios III y IV frente al 23% que tenían estadios I y II. La mediana de edad es de 57 años, con un 44% de menos de 60 años y un 56% con 60 años o más.

En esta serie de pacientes con LFT se analizaron los mismos criterios clínicos: la mayoría de los pacientes no presentaban anemia (70% con hemoglobina de más de 12 g/dL), ni elevación de beta 2 microglobulina (80%), ni de LDH (63%), ni síntomas B (63%), ni masa bulky (78%). La mayoría de los pacientes presentaban menos de 4 áreas ganglionares afectas (59%). Con todos estos datos, el FLIPI de los pacientes fue bajo-intermedio (número de variables adversas 0-2) en el 57% de los pacientes mientras que un 43% presentaban un grupo de riesgo alto (variables adversas 3-5).

También se ha analizado la afectación de la médula ósea y en nuestra serie el 30% de los pacientes la presentaban. En cuanto a la afectación extranodal, la mayoría de los pacientes no la presentaban (63%). Con respecto a la infección VIH, solo 1 paciente en el grupo de TH la presentaba.

Con respecto al estado general de los pacientes al diagnóstico el ECOG fue mayoritariamente 1 (53%), seguido de 0 (41%), 2 (6%), sin que ningún paciente presentase ECOG 3 (0%) o 4 (0%).

También se analizaron los principales tratamientos que han recibido los pacientes con transformación histológica. La mayoría han recibido rituximab (60%), sobre todo combinado con quimioterapia (57%) o también en monoterapia (3%). El 40% de los pacientes no recibió rituximab al inicio: 13% quimioterapia con antraciclinas, 3% quimioterapia sin antraciclinas y 24% observación.

Sobre tratamientos posteriores, el 22% de los pacientes a lo largo de su evolución reciben radioterapia y el 32% trasplante.

La mayoría de los pacientes con transformación histológica estaban vivos sin enfermedad (47%) o muertos (45%), mientras que solo un 8% están vivos con enfermedad.

3. Factores de riesgo para transformación histológica

Posteriormente pasamos a comparar ambas series de pacientes de cara a encontrar alguna característica clínica que fuese más frecuente en los pacientes con TH y que por tanto pudiese ayudarnos a predecir este curso clínico más agresivo.

Las características clínicas de los 64 pacientes con TH comparados con los pacientes sin TH se muestran en la Tabla 10. En el análisis univariante, los pacientes con TH presentan más frecuentemente un origen nodal ($p=0,04$), LDH alta ($p=0,02$), FLIPI intermedio-alto ($p=0,01$), ECOG igual o superior a 2 ($p=0,01$) y presencia de síntomas B ($p=0,001$).

Posteriormente realizamos el análisis multivariante de los criterios que parecían tener relación estadísticamente significativa con la transformación. En el modelo máximo incluimos estadios Ann Arbor iniciales (I-II) vs estadios avanzados (III-IV), FLIPI bajo (1), intermedio (2) o alto (3-5), LDH normal vs elevada y presencia o no de síntomas B. En el modelo final de regresión logística el FIPI bajo vs intermedio o alto (intermedio: $p=0,035$; OR 2; IC 95% 1-4 y alto: $p=0,004$; OR 2,7; IC 95% 1,3-5,3) y presencia de síntomas B ($p=0,01$; OR 2; IC 95% 1,2-3,5) mostraron relación con la posterior transformación histológica. El nivel de significación de la prueba de Hosmer-Lemeshow es igual a 0,510, y al observar las frecuencias observadas y esperadas son muy similares (datos no mostrados). Por tanto, la calibración del modelo es buena.

En cuanto a los tratamientos, en nuestra serie existe una relación clara entre la opción terapéutica de “observar y ver” y el desarrollo de una transformación histológica. En el grupo general, en un 2% de los pacientes se había optado por esta opción de inicio, mientras que en el grupo de transformados, en un 24% se había esperado antes de iniciar tratamiento ($p=0,0001$). El resto de tratamientos no parecía influir en la aparición de TH.

En cuanto a los tratamientos posteriores también llama la atención que el trasplante autólogo se realizó en un 5% de la serie general, mientras que en la

población con TH aumentaba hasta el 34% ($p=0,0001$). No existían estas diferencias entre otros tratamientos, por ejemplo, los pacientes que habían recibido radioterapia, que eran en ambos grupos un 22%.

Por último, en la comparativa de ambas series se ha recogido la situación del enfermo. En la serie general la mayoría de los pacientes están vivos sin enfermedad (65%), pero el resto se dividen entre pacientes con enfermedad (17%) y fallecidos (18%). En los pacientes con TH por el contrario se dividen entre vivos sin enfermedad (47%) y muertos (45%), con un pequeño tanto por ciento vivos con enfermedad (8%), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p=0,0001$).

Tabla 10: Características clínicas iniciales de ambas series (LF y LfT)

	NO TH N=911(%)	TH N=64(%)	Significación estadística
Edad	57.5	57	p=0,73
Sexo			
Varón	426 (47%)	25 (39%)	p=0,15
Mujer	485 (53%)	39 (61%)	
Grado			
1	287(34%)	17 (27%)	p=0,35
2	272 (32%)	24 (38%)	
3	290(34%)	23 (35%)	
Origen			
Nodal	769 (84%)	60 (94%)	p=0,04
Extranodal	142 (16%)	4 (6%)	
Estadio			
I	112 (12%)	4 (6%)	p=0,08
II	131 (14%)	11 (17%)	
III	241 (27%)	26 (41%)	
IV	426 (47%)	23 (36%)	
Edad			
<60 años	502 (55%)	28 (44%)	p=0,08
≥60 años	409 (45%)	36 (56%)	
Hemoglobina			
< 12	215 (24%)	19 (30%)	p=0,27
≥12	696 (76%)	45 (70%)	
Áreas ganglionares			
>4	382 (42%)	26 (41%)	p=0,97
≤4	528 (58%)	38 (59%)	
LDH			
Normal	685 (75%)	40 (63%)	p=0,02
Elevada	225 (25%)	24 (37%)	
FLIPI			
0	137 (15%)	7 (11%)	p=0,01
1	251 (28%)	7 (11%)	
2	281 (31%)	22 (35%)	
3	146 (16%)	18 (27%)	
4	76 (8%)	9 (14%)	
5	20 (2%)	1 (2%)	
ECOG			
0	534 (57%)	26(41%)	p=0,01
1	297 (34%)	34(53%)	
2	53 (6%)	4 (6%)	
3	21 (2%)	0(0%)	
4	4 (1%)	0 (0%)	
Beta2 microglobulina			
Normal	542 (64%)	50(80%)	p=0,06
Elevada	303 (36%)	12(20%)	
Afectación MO			
No	558 (61%)	45 (70%)	p=0,15
Si	352 (39%)	19 (30%)	
Síntomas B			
No	732 (80%)	40 (63%)	p=0,001
Si	178 (20%)	24 (37%)	
Masa Bulky			
No	693 (76%)	50 (78%)	p=0,71
Si	218 (24%)	14 (22%)	
Localizaciones extraganglionares			
No	514 (56%)	41 (63%)	p=0,24
Si	397 (44%)	23 (37%)	

Tabla 11: Tratamiento de ambas series (LF y LFt)

	NO TH N=911(%)	TH N=64(%)	Significación estadística
Tratamiento			
QT con antraciclinas	122 (14%)	8 (13%)	p=0,0001
QT sin antraciclinas	66 (7%)	2 (3%)	
QT con antraciclinas y rituximab	566 (63%)	27 (41%)	
QT sin antraciclinas y con rituximab	94 (10%)	10 (16%)	
Rituximab monoterapia	31 (3%)	2 (3%)	
Cirugía	13 (1%)	0 (0%)	
Observación	18 (2%)	15 (24%)	
ANÁLISIS DE TRATAMIENTO inicial			
Esperar y ver			
SI	18 (2%)	15 (24%)	p=0,0001
NO	892 (98%)	49 (76%)	
Antraciclinas			
SI	222 (24%)	29 (45%)	p=0,001
NO	686 (76%)	35 (55%)	
Rituximab			
SI	691 (76%)	39 (61%)	p=0,017
NO	219 (24%)	25 (39%)	
ANÁLISIS DE TRATAMIENTO posteriores			
Trasplante			
NO	869 (95%)	42 (66%)	p=0,0001
SI	41 (5%)	22 (34%)	

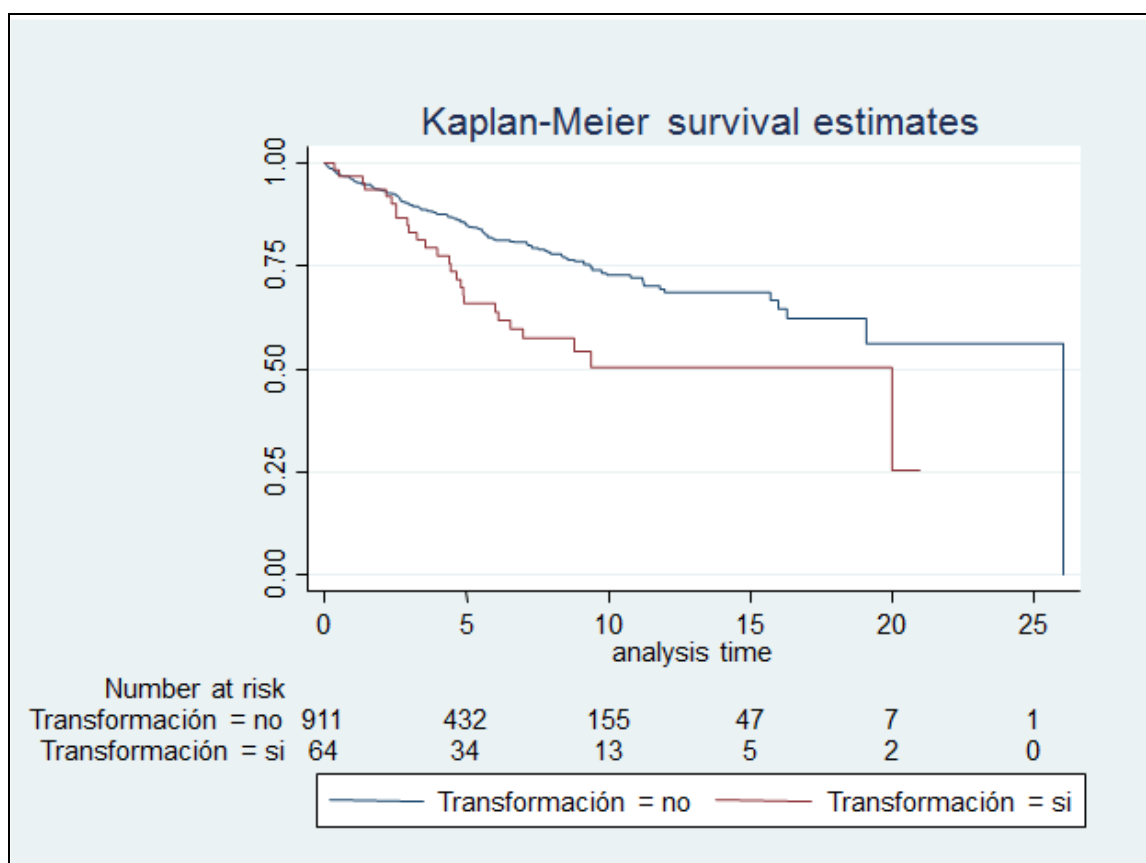
Tabla 12: Estado actual de los pacientes con LF y LFt

	NO TH N=911(%)	TH N=64(%)	Significación estadística
Vivo con enfermedad	150 (17%)	5 (8%)	p=0,0001
Vivo sin enfermedad	591 (65%)	30 (47%)	
Fallecido	162 (18%)	29 (45%)	

4. Supervivencias de ambas series

En cuanto a la supervivencia, en la serie general de 911 pacientes sin transformación las SPV a 1, 3, 5 y 10 años fueron del 96% (IC 95% 94-97%), 89% (IC 95% 87-91%), 85% (IC 95% 82-87%) y 72% (IC 95% 68-76%) respectivamente. En la serie de 64 pacientes con TH las SPV a 1, 3, 5 y 10 años fueron de 96% (IC 95% 87-99%), 83% (IC 95% 70-90%), 66% (IC 95% 51-76%) y 50% (IC 95% 35-64%) respectivamente. Estas diferencias de supervivencia alcanzan la significación estadística ($p=0,0012$) demostrando que los pacientes con transformación histológica tienen supervivencias claramente peores que los que no la tienen.

Figura 5: Curva de Kaplan-Meier de supervivencia en LF y LfT



5. Supervivencia tras la transformación

Se ha analizado la SG de los 64 pacientes tras la transformación histológica. Esta se ha estudiado a 1, 3 y 5 años, siendo del 70% (IC 95% 80-57%), del 60% (IC 95% 71-46%) y del 55% (IC 95% 67-41%). Esta supervivencia sería similar a la esperada para un LBDCG subtipo centro germinal que según lo publicado estaría en torno al 60% a 5 años.

En las curvas de supervivencia se puede apreciar también que el comportamiento de nuestra serie tras la transformación sería similar al de una población con LBDCG, con descenso importante de la supervivencia en los primeros 2 años. De los 64 pacientes, un 33% fallecen en estos primeros 2 años.

Figura 6: Curva de Kaplan-Meier de SG tras TH

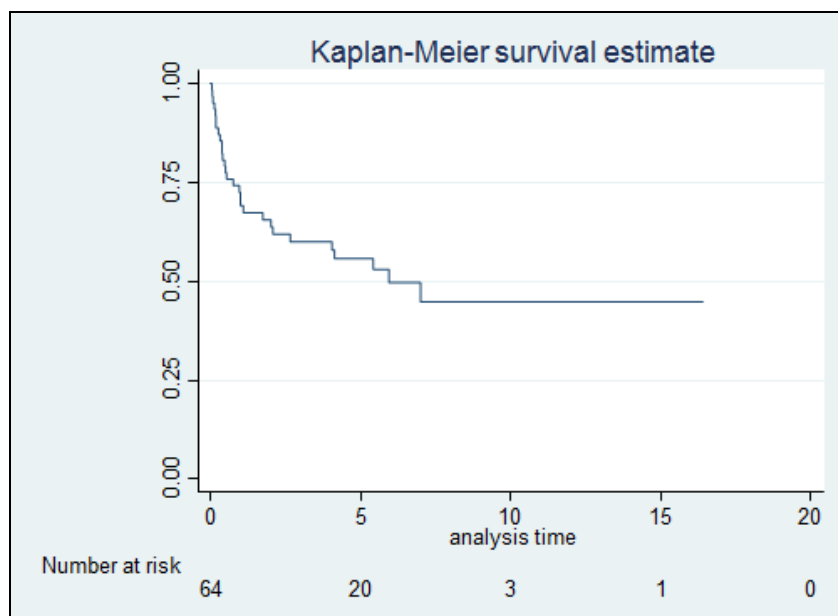
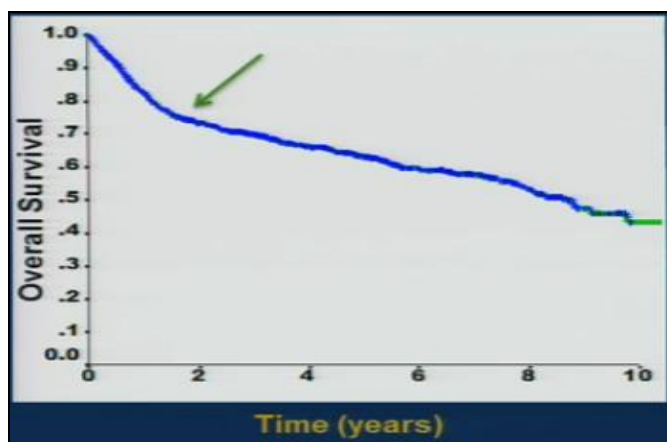


Figura 7: Curva de SG en LBDCG



6. Tasas y tiempo de transformación

La mediana desde el diagnóstico de linfoma folicular hasta el diagnóstico de transformación histológica fue de 24 meses.

Se ha observado que un 30% de los pacientes se transformaban el primer año de seguimiento tras el diagnóstico de LF y otro 30% entre el segundo y tercer año. A partir del quinto año la tasa de transformación se mantiene continua hasta que alcanza un plateau tras 14 años. Las tasas de transformación fueron de 2,11 por cada 100 personas/mes el primer año (IC 95% 1,3-3,3), 1,43 a 3 años (IC 95% 0,9-2,2), 0,8 a 10 años (IC 95% 0,5-1,5). En cuanto a la incidencia acumulada de transformación a 5 años, en nuestra serie se alcanza el 7,3% (IC 95% 5-9%).

Figura 8: Transformación en función de tiempo de seguimiento

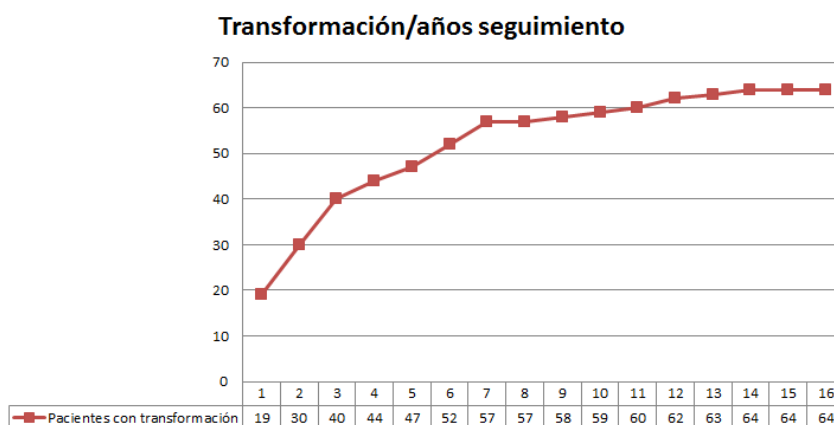
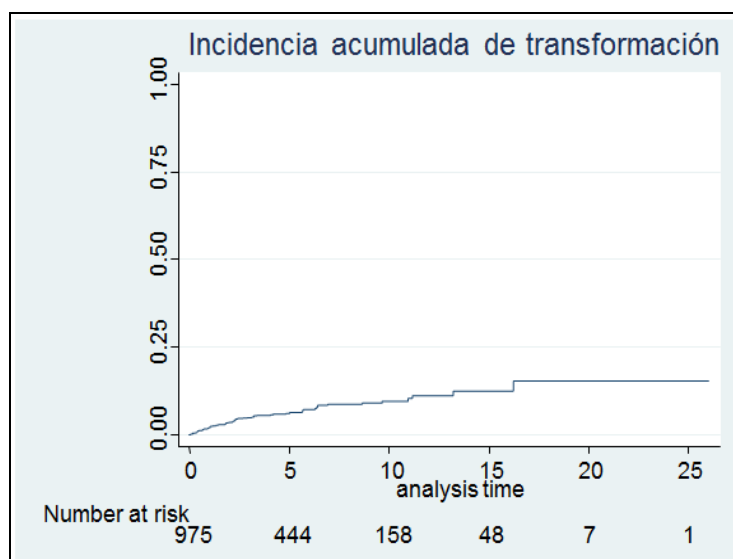


Figura 9: Incidencia acumulada de TH en el tiempo



7. Antecedentes de interés serie transformada

Centrándonos en los 64 pacientes con TH hemos encontrado que un 27% presentaban consumo de tóxicos, siendo los más importantes: tabaco (23%), alcohol (3%) y drogas (1,5%). En cuanto a las exposiciones ocupacionales: 1,5% exposición al asbesto y 1,5% a pinturas (sin encontrarse exposición a PVC o radón). También hemos analizado infecciones virales y en nuestra serie 6 pacientes presentan infección por VHB (5%), VHC (2%) y VIH (1,5%). Con respecto a los antecedentes oncológicos, los más frecuentes han sido: carcinoma de mama (6%), carcinoma de colon (3%), próstata (1,5%) y carcinoma basocelular (1,5%). Cabe destacar que no existen antecedentes de otros tumores también frecuentes como serían los carcinomas de pulmón, gástrico o vejiga. Tampoco se han registrado casos de antecedentes de trastornos autoinmunes o trasplante de órgano sólido.

Tabla 13: Antecedentes personales de pacientes con TH

Antecedentes de interés	Pacientes (%)
Tóxicos	17 (27%)
Tabaco	15 (23%)
Alcohol	2 (3%)
Drogas	1 (1,5%)
Exposición ocupacional	2 (3%)
Asbesto	1 (1,5%)
Pintura	1 (1,5%)
Infecciones virales	6 (9%)
VHB	3 (5%)
VHC	2 (3%)
VIH	1 (1,5%)
Antecedentes oncológicos	8 (12,5%)
Carcinoma mama	4 (6%)
Carcinoma colon	2 (3%)
Carcinoma próstata	1 (1,5%)
Carcinoma piel no melanoma	1 (1,5%)

8. Características antes y tras transformación

Analizando las características clínicas de la serie de 64 pacientes al diagnóstico de LF y al diagnóstico de TH se ha visto que parecían empeorar en una serie de factores como el estadio o la afectación visceral, en parámetros clínicos como fue la presencia de síntomas B o el ECOG y en parámetros analíticos como hemoglobina, LDH, beta2 microglobulina.

En cuanto a la afectación visceral, al inicio las localizaciones más frecuentes fueron hepática (33%), pleuropulmonar (33%), gastrointestinal (23%) y renal (11%). Tras la transformación las afectaciones fueron a nivel pulmonar (28%), hepática (23%), musculocutánea (14%), gastrointestinal (14%), renal (7%), ovárica (7%) y testicular (7%).

Tabla 14: Características clínicas en LF y en TH

	LINFOMA FOLICULAR antes de TH N=64 (%)	LINFOMA TRANSFORMADO N=64 (%)
Estadio		
I	4 (6%)	0 (0%)
II	11 (17%)	13 (20%)
III	26 (41%)	25 (39%)
IV	23 (36%)	26 (41%)
Hemoglobina		
<12	19 (30%)	26 (41%)
≥12	45 (70%)	38 (59%)
LDH		
Normal	40 (63%)	17 (27%)
Elevada	24 (37%)	47 (73%)
ECOG		
0	26 (41%)	11 (17%)
1	34 (53%)	37 (58%)
2	4 (6%)	14 (22%)
3	0 (0%)	2 (3%)
4	0 (0%)	0 (0%)
Beta2 microglobulina		
Normal	50 (80%)	34 (55%)
Elevada	12 (20%)	28 (45%)
Síntomas B		
No	40 (63%)	22 (34%)
Si	24 (37%)	42 (66%)
Masa bulky		
No	50 (78%)	45 (70%)
Si	14 (22%)	19 (30%)
Afectación visceral		
No	54 (84%)	48 (75%)
Si	10 (16%)	16 (25%)

Se llevó a cabo un análisis más detallado de las características de los pacientes antes y después de la transformación para determinar si algún criterio empeoraba de forma estadísticamente significativa de todos los analizados.

En cuanto al estadio, el 50% de los pacientes diagnosticados en estadio I pasaban a estadio II y el 50% restante a estadio III. De los pacientes diagnosticados en estadio II, la mayoría (55%) se quedaban en estadio II, mientras que un 18% pasaban a estadio III y un 27% a estadio IV. De los estadios III iniciales, la mayoría también se quedaban como estadio III (62%), un 23% aumentaban a un estadio IV y un 15% pasaban a estadio II. Del estadio IV inicial, un 75% seguían siendo estadio IV, mientras que un 39% pasaba a estadio III y un 20% a estadio II. Estas diferencias entre estadios en el momento de diagnóstico de linfoma folicular y los estadios en el momento de la transformación histológica no alcanzaban la significación estadística ($p=0,25$).

Tabla 15: Diferencias en estadio al diagnóstico de LF y en LFt

Estadio inicial (%)	Estadio transformación (%)				
	I	II	III	IV	
I	0 (0%)	2 (50%)	2 (50%)	0 (0%)	4 (100%)
II	0 (0%)	6 (55%)	2 (18%)	3 (27%)	11 (100%)
III	0 (0%)	4 (15%)	16 (62%)	6 (23%)	26 (100%)
IV	0 (0%)	1 (4%)	5 (21%)	17 (75%)	23 (100%)
Total	0 (0%)	13 (20%)	25 (39%)	26 (41%)	64 (100%)

En cuanto a la hemoglobina, los que debutaron con hemoglobina normal, el 51% descendió el valor a menos de 12 y el 49% siguió en valores normales. Estas diferencias entre hemoglobina en el momento de diagnóstico de linfoma folicular y la hemoglobina en el momento de la transformación histológica no alcanzaban la significación estadística ($p=0,26$).

Tabla 16: Diferencias en valor de hemoglobina al diagnóstico de LF y en Lft

Hemoglobina inicial (%)	Hemoglobina transformación (%)		
	<12	≥12	
<12	3 (16%)	16 (84%)	19 (100%)
≥12	23 (51%)	22 (49%)	45 (100%)
Total	26 (41%)	38 (59%)	64 (100%)

En cuanto a la LDH, de los pacientes con LDH normal al diagnóstico de LF, la mayoría aumentaba en el momento de la transformación (65%). De los que debutaron con LDH aumentada, el 88% siguió aumentada y solo el 12% estaba normal en el momento de la transformación. Estas diferencias entre LDH en el momento de diagnóstico de linfoma folicular y LDH en el momento de la transformación histológica si alcanzaban la significación estadística ($p=0,0001$).

Tabla 17: Diferencias en valor de LDH al diagnóstico de LF y en Lft

LDH inicial (%)	LDH transformación (%)		
	Aumentada	Normal	
Aumentada	21 (88%)	3 (12%)	24 (100%)
Normal	26 (65%)	14 (35%)	40 (100%)
Total	47 (73%)	17 (27%)	64 (100%)

Con respecto al ECOG, la mayoría de los pacientes con ECOG 0 inicial aumenta a ECOG 1 (54%) o 2 (11%). El 23% de los pacientes con ECOG 1 pasa a ECOG 2 y un 3% a ECOG 3. En cuanto al ECOG 2, un 25% pasan a ECOG 3. Estas diferencias en

cuanto a situación general del enfermo antes y después de la transformación histológica son estadísticamente significativas ($p=0,0001$).

Tabla 18: Diferencias en ECOG al diagnóstico de LF y en LFt

ECOG inicial (%)	ECOG transformación (%)				
	0	1	2	3	
0	9 (35%)	14 (54%)	3 (11%)	0	26 (100%)
1	2 (6%)	23 (68%)	8 (23%)	1 (3%)	34 (100%)
2	0	0	3 (75%)	1 (25%)	4 (100%)
3	0	0	0	0	0 (100%)
Total	11 (17%)	37 (58%)	14 (22%)	2 (3%)	64 (100%)

Siguiendo con las diferencias antes y después de la transformación, se ha analizado los valores de beta2 microglobulina en 62 pacientes. La mayoría de los que inicialmente fueron diagnosticados con aumento de beta2 microglobulina (92%), en el momento de la transformación también presentaban aumento de la misma. Por el contrario, un 34% de los pacientes con beta2 microglobulina normal tenían un aumento de este valor al diagnóstico de la transformación. Estas diferencias también fueron estadísticamente significativas ($p=0,0002$).

Tabla 19: Diferencias en valor de Beta2 microglobulina al diagnóstico de LF y en LFt

Beta2 microglobulina inicial (%)	Beta2 microglobulina transformación (%)		
	Aumentada	Normal	
Aumentada	11 (92%)	1 (8%)	12 (100%)
Normal	17 (34%)	33 (66%)	50 (100%)
Total	28 (45%)	34 (55%)	62 (100%)

También se analizaron la presencia o no de síntomas B. El 83% de los pacientes que debutaron con síntomas B también los presentaban en el momento de la TH. El 55% de los pacientes que al diagnóstico de LF no presentaban síntomas B sí lo hacían en el momento de la transformación. Estas diferencias eran estadísticamente significativas ($p=0,0004$).

Tabla 20: Diferencias en síntomas B al diagnóstico de LF y en LFT

Síntomas B inicial (%)	Síntomas B transformación (%)		
	No	Si	
No	18 (45%)	22 (55%)	40 (100%)
Si	4 (17%)	20 (83%)	24 (100%)
Total	22 (34%)	42 (66%)	64 (100%)

En cuanto a la masa bulky, el 80% de los pacientes que no la presentaban al inicio tampoco lo hacían en el momento de la transformación y el 64% que la tenían en el diagnóstico de LF persistía en el momento transformación. Solo el 20% de pacientes que no la presentaban al inicio sí lo hicieron en la TH. Estas diferencias no alcanzaban la significación estadística ($p=0,19$)

Tabla 21: Diferencias en masa bulky al diagnóstico de LF y en LFT

Masa bulky inicial (%)	Masa bulky transformación (%)		
	No	Si	
No	40 (80%)	10 (20%)	50 (100%)
Si	5 (36%)	9 (64%)	14 (100%)
Total	45 (70%)	19 (30%)	64 (100%)

El 83% de los pacientes que no presentaban afectación visceral cuando fueron diagnosticados del linfoma folicular tampoco lo presentaron en el momento de la transformación histológica. El 70% de los que tenían afectación visceral al inicio la mantuvieron en el momento de la transformación. Solo el 17% de los pacientes que no presentaban afectación inicial sí lo hicieron posteriormente. Estas diferencias no alcanzaban la significación estadística ($p=0,08$).

Tabla 22: Diferencias en afectación visceral al diagnóstico de LF y en LFt

Afectación visceral inicial (%)	Afectación visceral transformación (%)		
	No	Si	
No	45 (83%)	9 (17%)	54 (100%)
Si	3 (30%)	7 (70%)	10 (100%)
Total	48 (75%)	16 (25%)	64 (100%)

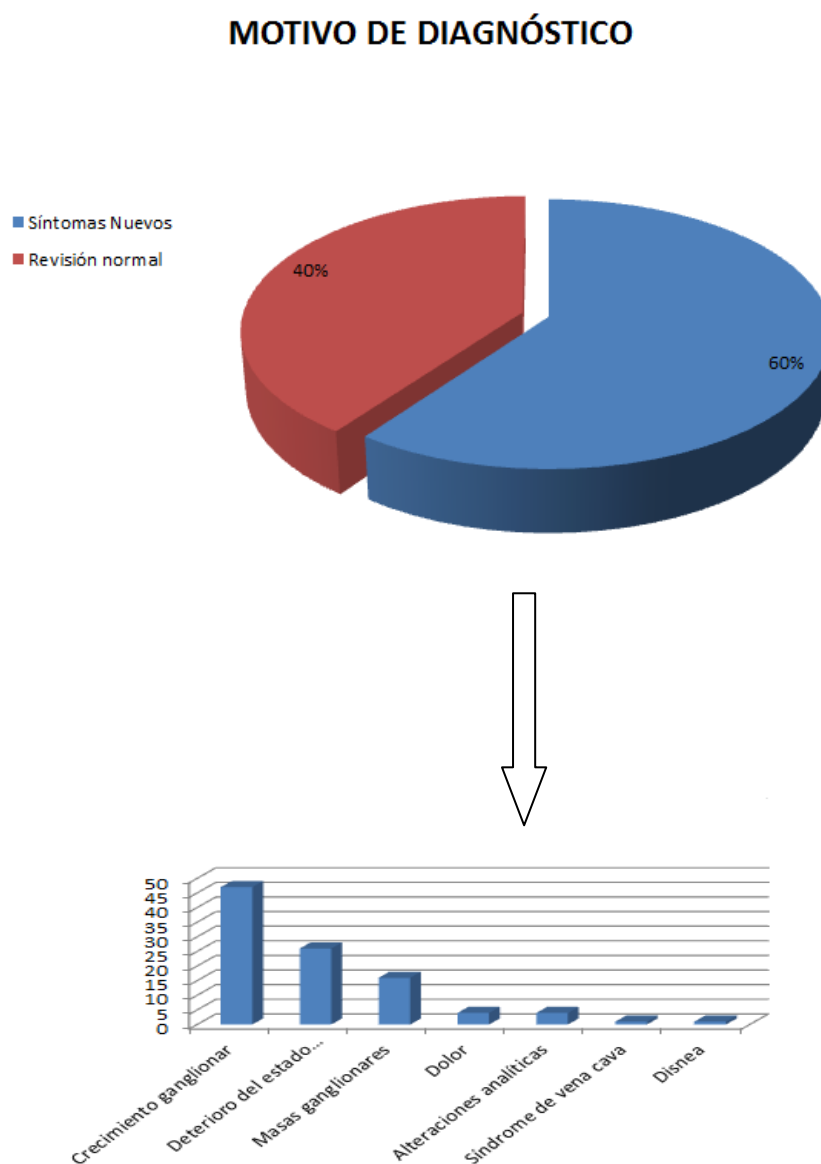
No se han analizado diferencias en afectación de médula ósea al inicio y en el momento de la transformación histológica ya que este dato no estaba recogido en muchos de los pacientes analizados. Esto se debe a que los pacientes en el momento de la TH presentaban muchas veces deterioro clínico importante que obligó a tratamiento sin completar estudio con esta prueba.

En resumen, características clínicas como empeoramiento del ECOG o aparición de síntomas B y valores analíticos como aumento de LDH o beta2 microglobulina se asocian de forma estadísticamente significativa con transformación histológica en nuestra serie.

9. Motivo para diagnóstico de transformación

Se registró si los pacientes habían acudido a consulta con aparición de síntomas nuevos o el diagnóstico de transformación histológica se había producido en una revisión normal. El 60% de los pacientes presentaban síntomas nuevos, sobre todo en un 47% crecimiento ganglionar rápido en zonas previamente afectas o en otras localizaciones y en un 26% deterioro del estado general (astenia, anorexia, aparición de síntomas B, prurito). Cabe destacar que el 16% de los pacientes con síntomas nuevos presentaron aparición de masas ganglionares a distintos niveles, en 1 caso incluso ocasionando un síndrome de vena cava superior.

Figura 10: Motivos que han llevado al diagnóstico de TH



10. Tratamientos en la serie con transformación

Posteriormente se ha procedido a analizar los tratamientos que han recibido estos 64 pacientes tanto antes como después de la TH. De forma general, en un 24% de los pacientes se decide inicialmente actitud expectante mientras que el 76% reciben tratamientos (quimioterapia el 70%, 3% rituximab monoterapia, 3% radioterapia). A lo largo de la evolución de la enfermedad, un 34% de los pacientes recibe trasplante (21 pacientes autólogo y 1 paciente alogénico), 14% radioterapia y un 5% radioinmunoconjugados. El tratamiento con rituximab es más complejo y será objeto de un análisis más detallado.

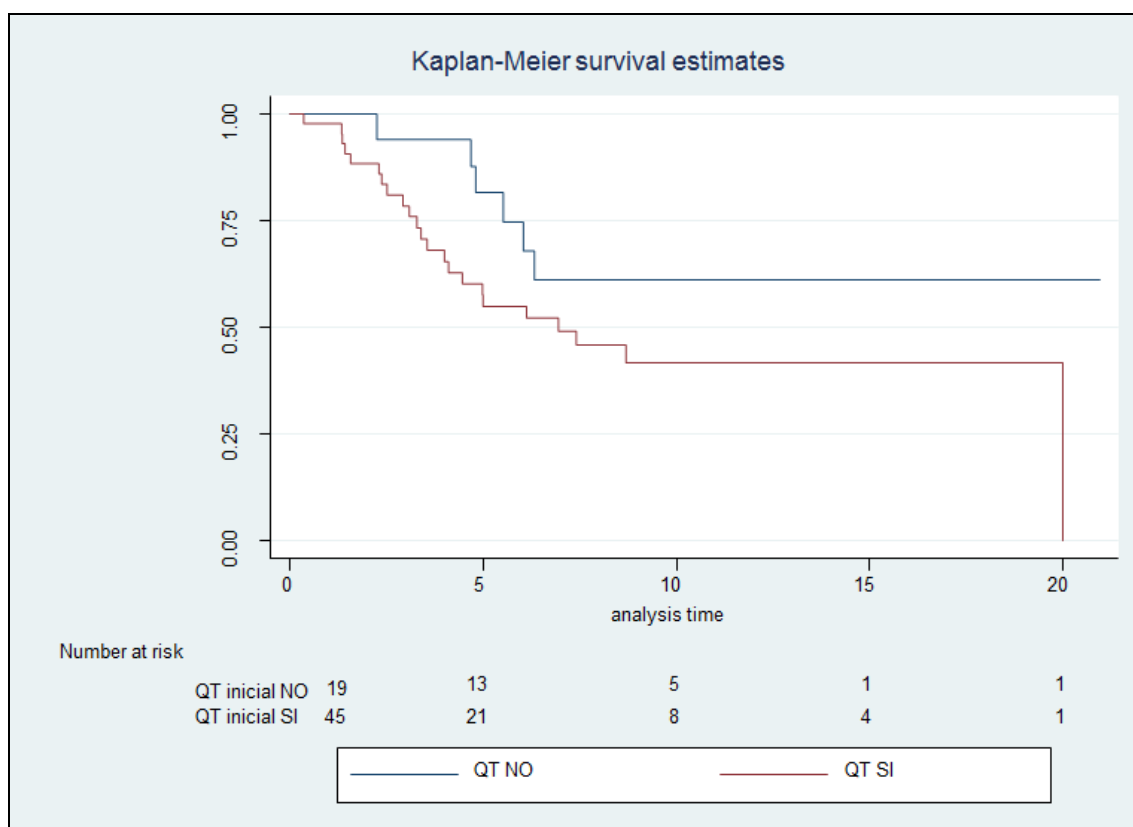
Tabla 23: Tratamientos administrados a los pacientes con TH

	Tratamiento pacientes con TH N= 64 (%)
Esperar y ver	15 (24%)
Quimioterapia	64 (100%)
Antes de TH	45 (70%)
Después de TH	64 (100%)
Radioterapia	14 (22%)
Radioinmunoconjugados	3 (5%)
Trasplante	22 (34%)
Rituximab	64 (100%)
Rituximab mantenimiento	19 (30%)

Tratamiento con quimioterapia o no

Con respecto a los tratamientos de quimioterapia que habían recibido los pacientes, se ha visto que todos los 64 pacientes en algún momento a lo largo de la historia de su enfermedad recibieron quimioterapia. Las diferencias principales estaban en que la hubiesen recibido desde el diagnóstico de linfoma folicular (45 pacientes) o no (15 pacientes esperar y ver, 2 pacientes tratados con RT y 2 pacientes tratados con rituximab en monoterapia). La supervivencia a 5 años entre los pacientes que recibieron QT desde el inicio fue de 55% (IC 95% 38-69%) y los que no lo hicieron fue del 81% (IC 95% 53-93%). En este caso estas diferencias sí que alcanzan la significación estadística ($p=0,009$).

Figura 11: Curva de Kaplan Meier según tratamiento de quimioterapia inicial

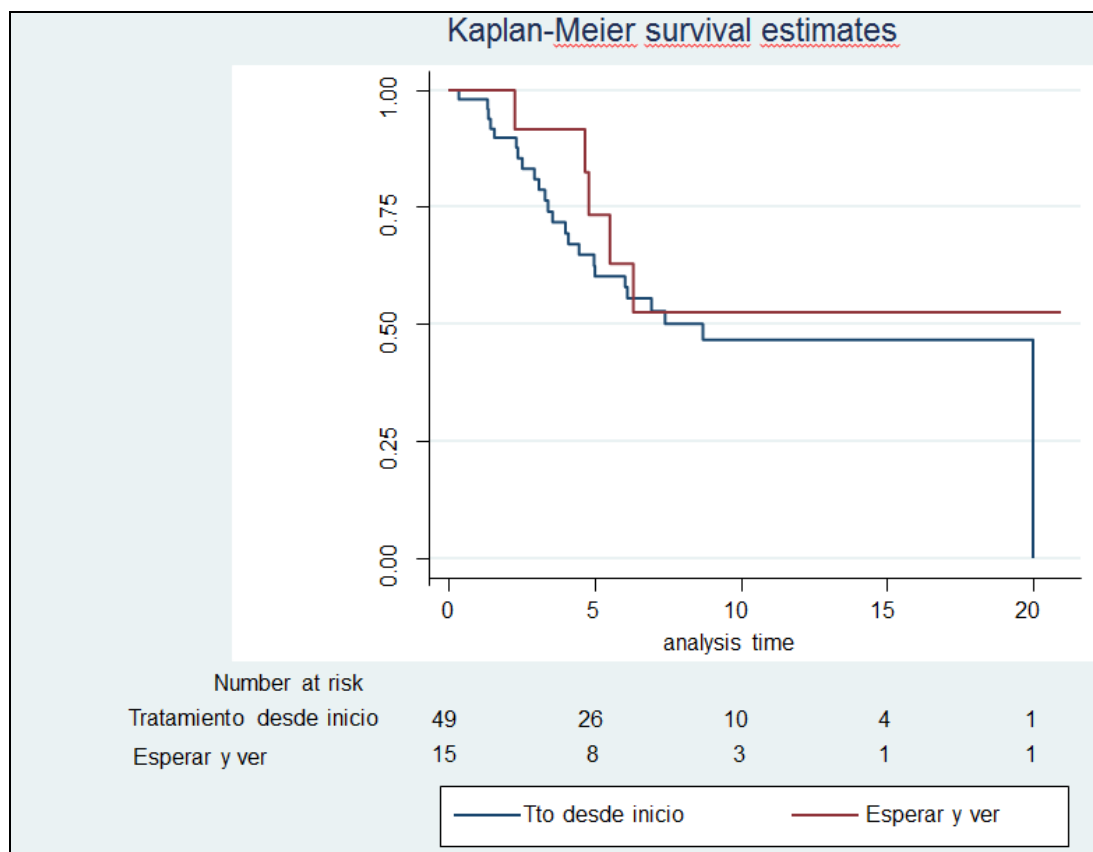


Esperar y ver

En esta serie se han recogido datos de 15 pacientes que de forma inicial se decidió “esperar y ver” antes de iniciar cualquier tratamiento. Tras la transformación histológica estos pacientes recibieron todos ellos tratamiento de quimioterapia, 12 pacientes combinaciones con rituximab (2 pacientes R-CVP, 9 pacientes R-CHOP y 1 paciente R-COMP) mientras que 2 recibieron combinaciones sin rituximab (CHOP). De estos 2 últimos pacientes, 1 progresó y falleció y el otro paciente recibió fludarabina en monoterapia y también falleció posteriormente.

Se ha analizado la supervivencia de los pacientes que se había decidido esperar y ver y parece que tienen datos mejores que la serie que había recibido algún tratamiento de inicio (QT, RT o rituximab en monoterapia). La supervivencia a 1, 3 y 5 años de los pacientes se decidía no iniciar tratamiento fue del 100%, 92% (IC 95% 57-99%) y 67% (IC 95% 34-86%), mientras que los que sí lo recibían fue del 97% (IC 95% 86-99%), 80% (66-89%) y 59% (IC 95% 43-72%). Pese a las diferencias observadas, estas no alcanzaban la significación estadística ($p=0,2$).

Figura 12: Curva de Kaplan Meier de “esperar y ver” o tratamiento



Igual que en lo descrito, en algunas series se publicaban datos de supervivencia más alta para el grupo de pacientes que se decide “esperar y ver” frente a los que reciben tratamiento inicial. Pueden existir factores de confusión asociados ya que los pacientes en los que se decide “esperar y ver” pueden ser los que presentan características menos agresivas de la enfermedad. En nuestra serie puede que no se alcance la significación por el bajo número de pacientes en ambas ramas. Para intentar aclarar este punto se han analizado las diferencias entre los 49 pacientes que han recibido un tratamiento desde el inicio y los 15 que se decidió “esperar y ver”.

Tabla 24: Características de los pacientes que reciben tratamiento inicial frente a los que se decide “esperar y ver”

	TRATAMIENTO INICIAL N=49 (%)	ESPERAR Y VER N=15 (%)	OR (IC 95%)	Significación estadística (p)
Edad	55	62	1,1	0,05
Estadio				
I	2 (4%)	2 (13%)	Cat referencia	
II	8 (16%)	3 (20%)	0,3 (0,03-3,9)	0,4
III	20 (41%)	6 (40%)	0,3 (0,03-2,6)	0,2
IV	19 (39%)	4 (27%)	0,2 (0,02-1,9)	0,2
Hemoglobina				
<12	17 (35%)	2 (13%)	3,4 (0,7-17,1)	0,09
≥12	32 (65%)	13 (77%)		
LDH				
Normal	29 (59%)	11 (73%)	1,9 (0,5-6,8)	0,3
Elevada	20 (41%)	4 (27%)		
ECOG				
0	17 (35%)	9 (60%)	Cat referencia	
1	30 (61%)	4 (27%)	0,2 (0,06-0,9)	0,04
2	2 (4%)	2 (13%)	1,9 (0,2-15,7)	0,55
3	0 (0%)	0 (0%)	0	
4	0 (0%)	0 (0%)	0	
Beta2 microglobulina				
Normal	38 (80%)	12 (80%)	1,1 (0,2-4,3)	0,9
Elevada	9 (20%)	3 (20%)		
Síntomas B				
No	29 (59%)	11 (73%)	1,9 (0,5-6,8)	0,3
Si	20 (41%)	4 (27%)		
Masa bulky				
No	36 (73%)	14 (93%)	5,0 (0,6-42,3)	0,07
Si	13 (27%)	1 (7%)		
Afectación visceral				
No	40 (82%)	14 (93%)	3,1 (0,3-27,1)	0,2
Si	9 (18%)	1 (7%)		
Afectación médula ósea				
No	34 (69%)	11 (73%)	1,2 (0,3-4,4)	0,7
Si	15 (31%)	4 (27%)		

Para variables como edad, hemoglobina, LDH, Beta2, síntomas B, masa bulky, afectación visceral y afectación de médula ósea, se realizó la Odds Ratio tomando como evento el tratamiento “esperar y ver”.

Así, si el paciente tiene hemoglobina mayor de 12 tiene riesgo 3,4 mayor de estar en el grupo de “esperar y ver” que en el de tratamiento inicial. Con LDH normal existe 1,9 veces más riesgo de “esperar y ver” y con beta2 microglobulina normal tiene 1,1 más riesgo de “esperar y ver”.

En cuanto a síntomas B, masa bulky, afectación visceral y de médula ósea, los OR de estar en el grupo “esperar y ver” si no presenta ninguna de estas características fueron de 1,9, 5, 3,1 y 1,2 respectivamente.

De todas las anteriores variables estudiadas, las que más peso presentaban para que se decidiese “esperar y ver” fueron hemoglobina normal, no tener masa bulky y no tener afectación visceral. Estaban próximas a alcanzar la significación las dos primeras, si bien el bajo tamaño muestral hace que los intervalos de confianza sean muy amplios y posiblemente por esto no se alcanza la significación.

En cuanto a la edad, cada año adicional de vida, se asocia con un 10% más de probabilidad de encontrarse en el grupo de “esperar y ver” que de tratamiento. Es decir, en el grupo “esperar y ver” se encuentran pacientes más mayores que en el grupo de tratamiento, y esta diferencia de edad sí alcanza la significación estadística.

En cuanto al ECOG y estadio, se consideró variable de referencia el estadio I y el ECOG 0. Con respecto a estos, según avanza el estadio, el paciente tiene menos riesgo de estar en el grupo de “esperar y ver”, aunque no alcanza la significación. Para el ECOG, que el paciente presentase un ECOG 1 frente a un ECOG 0 hacía que tuviese 80% menos de probabilidad de estar en “esperar y ver” con respecto a tratamiento ($p=0,004$). Parece que un deterioro clínico asociado con la enfermedad sí que se relaciona más frecuentemente con tratamiento y esta diferencia sí que alcanzaba la significación.

En resumen, existen características como hemoglobina normal y no presentar masa bulky o no tener afectación visceral, que se asocia de forma más fuerte con “esperar y ver”, aunque no podemos decir que lleguen a alcanzar la significación

estadística. Podría deberse al bajo tamaño muestral. Lo que sí se relaciona de forma estadística con “esperar y ver” o decidir tratamiento es el ECOG ($p=0,04$) y la edad ($p=0,05$) que tiene el paciente en el momento del diagnóstico.

Trasplante autólogo

También se ha analizado si el haber recibido un trasplante autólogo puede tener influencia en la supervivencia de los pacientes. En la serie existía un paciente que había sido sometido a trasplante alogénico que ha sido excluido de este análisis. La supervivencia a 5 años de los 21 pacientes que recibían trasplante fue del 78% (IC 95% 51-91%) y de los 42 que no lo recibían del 54% (IC 95% 37-69%), sin alcanzar la significación ($p=0,06$). Posteriormente se separaron los 2 pacientes que habían recibido el trasplante antes de la transformación histológica de los 19 pacientes que lo habían hecho posteriormente. Los 2 pacientes con trasplante antes, sufrieron TH a los 5 y 6 años tras éste y seguían vivos a los 10 años de seguimiento. La supervivencia a 5 años de los que recibían trasplante solo tras la transformación fue del 81% (IC 95% 53-93%), sin alcanzar significación estadística ($p=0,07$).

Figura 13: Curva de Kaplan Meier para pacientes trasplantados frente a no trasplantados

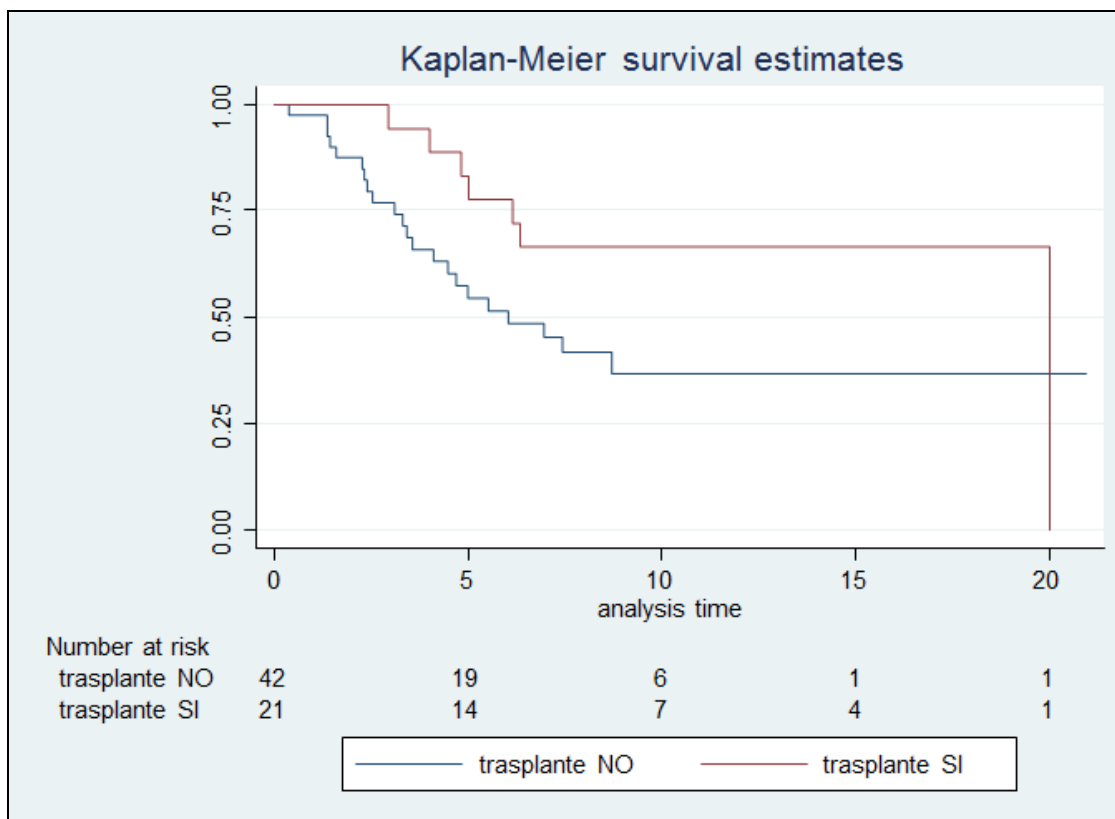
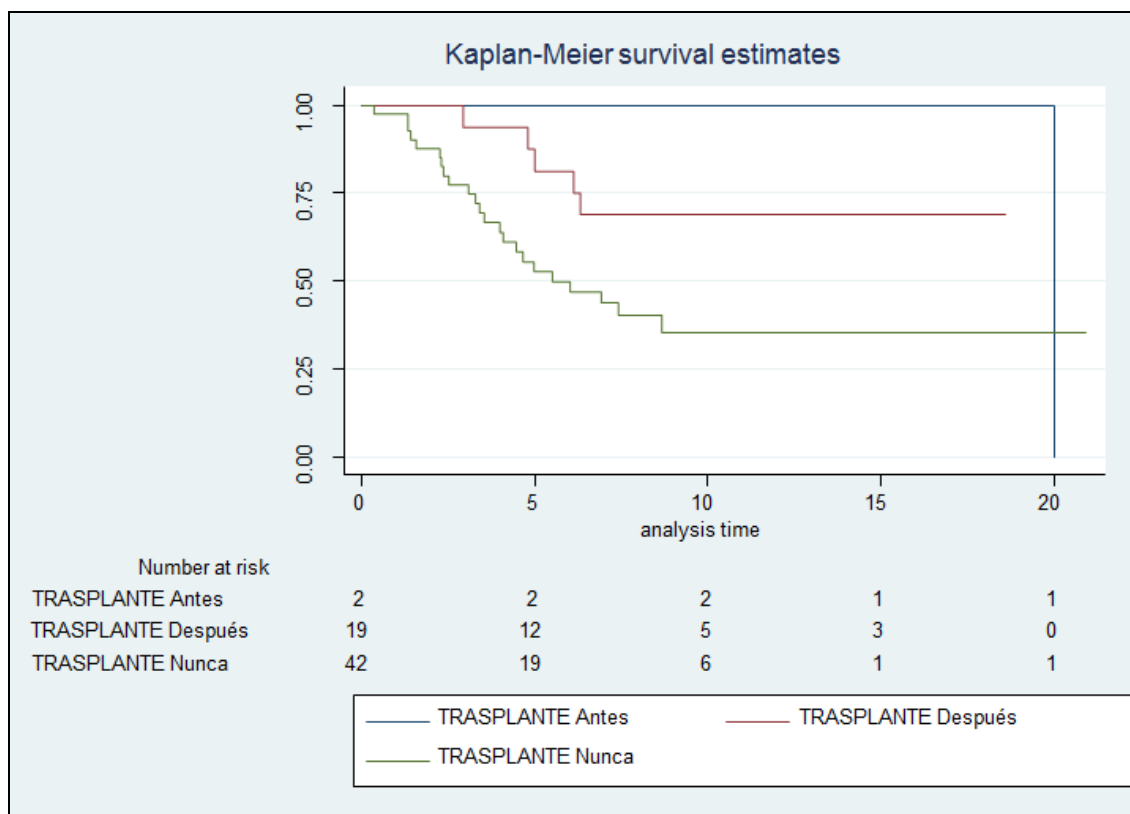


Figura 14: Curva de Kaplan Meier en función del momento del trasplante respecto a la transformación



Se ha recogido el uso de rituximab en los 19 pacientes que recibieron trasplante tras la transformación. Dieciocho pacientes habían recibido rituximab en combinación con quimioterapia, sobre todo los esquemas R-CHOP y R-ESHAP. Seis pacientes recibieron de primera línea para tratamiento del linfoma folicular esquema CHOP, pero posteriormente tras la transformación recibieron tratamiento inducción previo al trasplante con rituximab (sobre todo esquema R-ESHAP y R-ICE).

Con respecto al trasplante, se han registrado pautas de acondicionamiento y realización de purga previa o no. En el caso de los pacientes sometidos a trasplante autólogo, el 95% recibió esquema de acondicionamiento según combinación BEAM (BCNU, etopósido, Ara-C y melfalán), el 5% restante con esquemas que incluían ciclofosfamida. Para el trasplante alogénico, el 100% incluían esquemas con fludarabina. En los pacientes sometidos a trasplante alogénico, el 95% no recibió purga en relación con este.

Radioterapia

En cuanto a la radioterapia, se han buscado las diferencias entre los 14 pacientes que han recibido este tratamiento con respecto a los 50 que no lo han hecho. La supervivencia a 5 años para los primeros fue del 57% (IC 95% 17-83%) y para los segundos del 62% (IC 95% 46-75%), con $p=0,87$. Posteriormente se separaron los pacientes que la habían recibido antes de la TH (7 pacientes) de los que lo habían hecho después (7 pacientes) y se volvió a comparar con los que nunca la habían recibido. La supervivencia a 5 años de los tratados con radioterapia antes de la transformación fue del 57% (IC 95% 17-83%) y de los que fueron tratados después del 71% (IC 95% 25-91%), sin alcanzar la significación estadística ($p=0,96$).

Figura 15: Curva de Kaplan Meier para pacientes con radioterapia o no

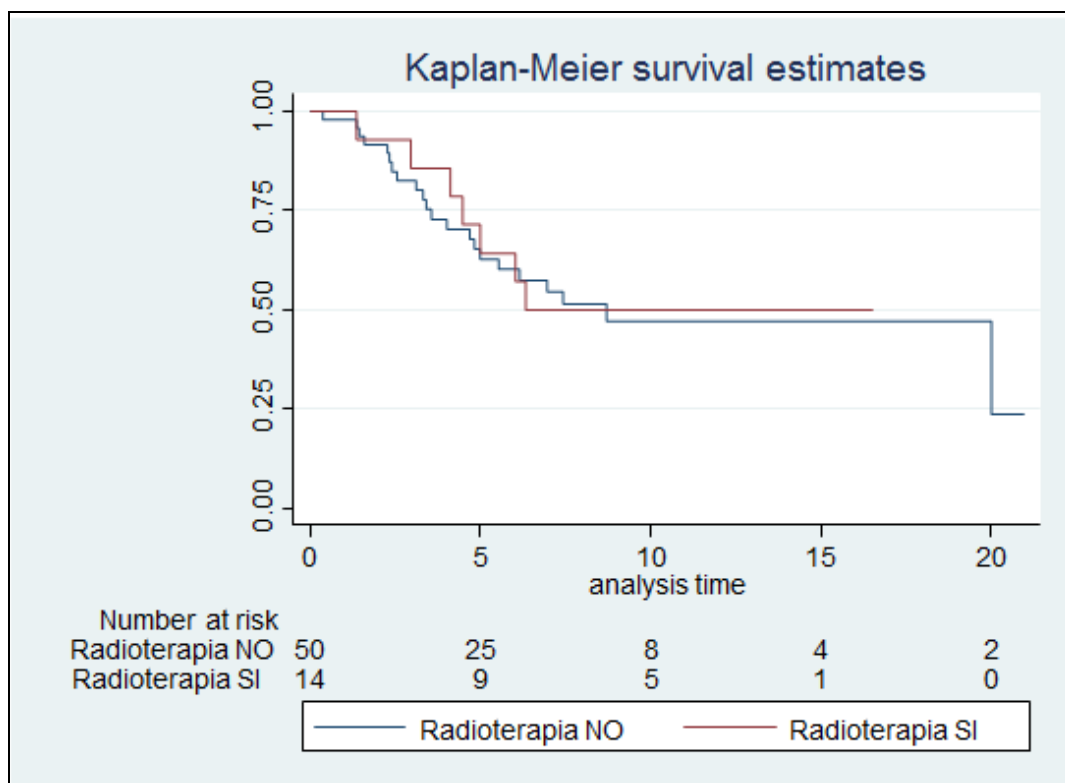
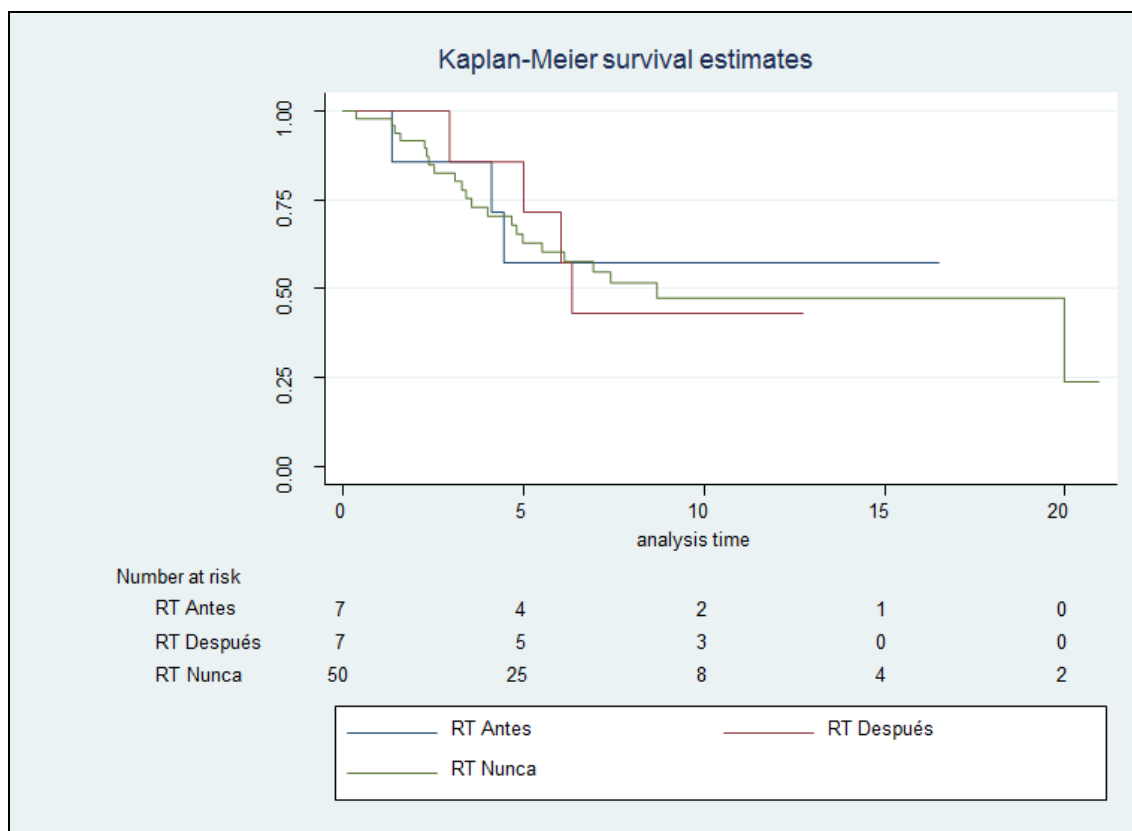


Figura 16: Curva de Kaplan Meier en función del momento de la radioterapia respecto a la transformación



En cuanto al tratamiento de radioterapia, se han registrado las dosis y los campos administrados. El 60% de los pacientes reciben dosis de 40 Gy, el 25% reciben dosis de menos de 40 Gy (mediana de 25 Gy) y el 15% dosis superiores (mediana de 80 Gy). Los campos radiados incluyen sobre todo áreas ganglionares afectas y lesiones óseas. El 71% de los pacientes reciben tratamiento sobre áreas ganglionares (sobre todo inguinal, axilar o mediastino), el 29% restante sobre zonas óseas afectas (sobre todo a nivel pélvico y columna).

Radioinmunoconjugados

En cuanto al tratamiento con radioinmunoconjugados (RIC) solo se han administrado a 3 pacientes, lo que hace que no se puedan sacar muchas conclusiones al respecto. El único paciente que recibió los RIC tras la transformación sigue vivo y sin enfermedad (fecha de su última revisión en febrero de 2016) y los 2 pacientes que los recibieron antes de la TH han fallecido. 1 paciente presentó transformación a los 2 años tras el tratamiento con los RIC y el otro a los 3 años. La supervivencia a 5 años de los que reciben RIC antes de la transformación es del 50%, de los que lo reciben después es del 100% y los que no los reciben del 63% (IC 95% 48-74%) sin alcanzar significación estadística ($p=0,31$).

Figura 17: Curva de Kaplan Meier para pacientes con radioinmunoconjugados o no

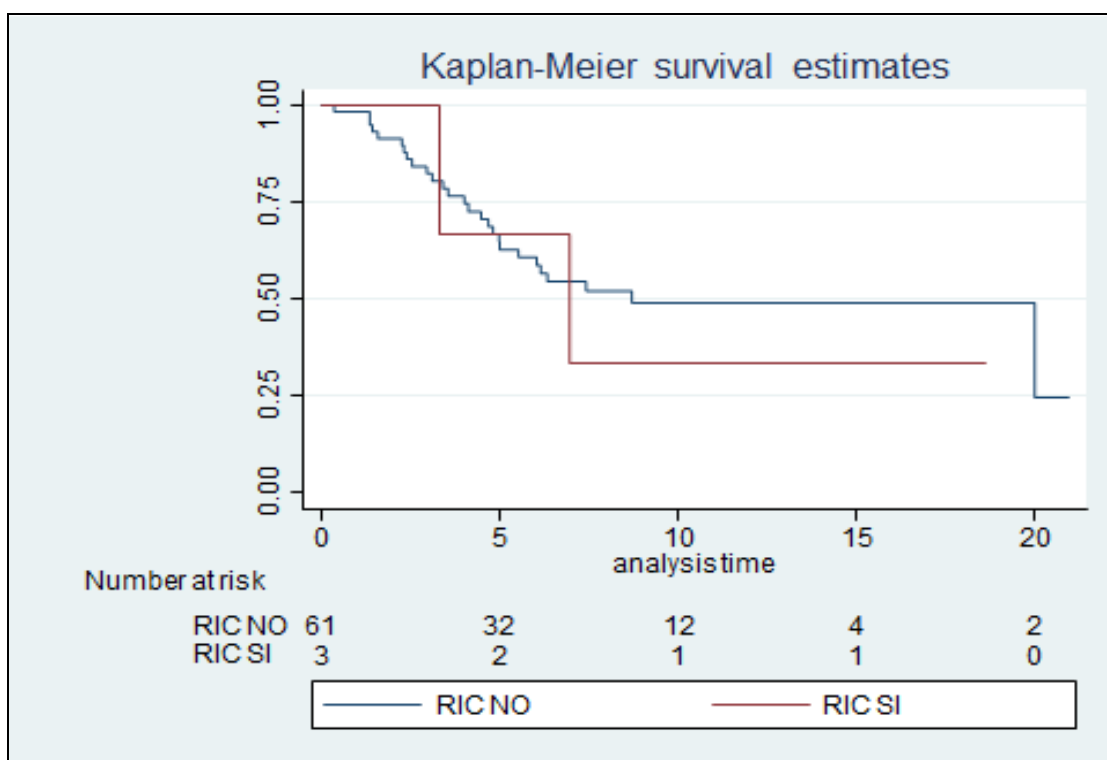
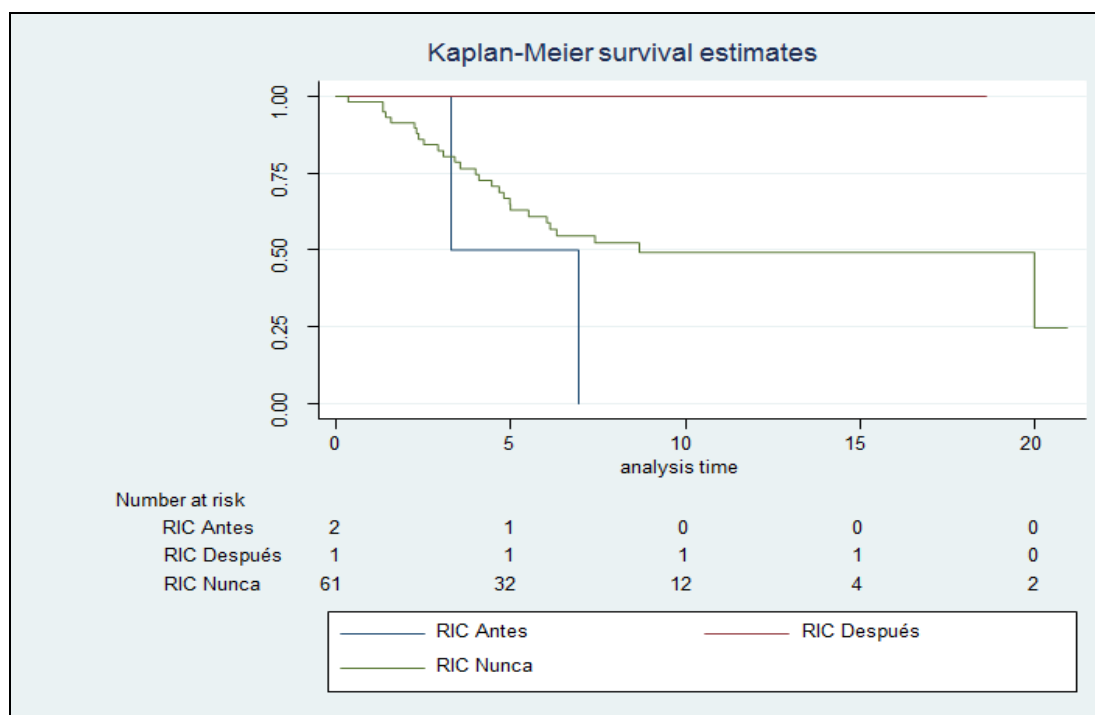


Figura 18: Curva de Kaplan Meier en función del momento de los radioinmunoconjugados respecto a la transformación

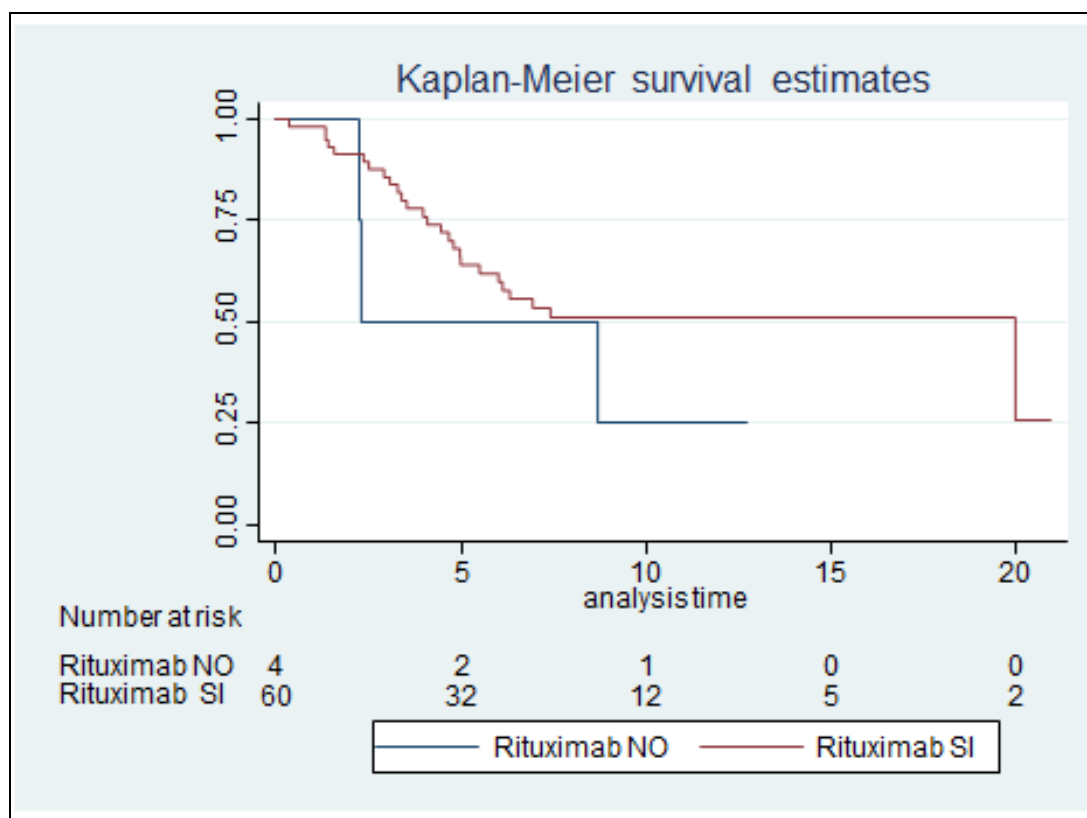


Rituximab

Entrando en el tratamiento con rituximab tenemos por un lado los pacientes que han recibido el fármaco dentro de un esquema de tratamiento (tanto como parte de la quimioterapia como los que lo han recibido en monoterapia) y por otro los que lo han recibido como mantenimiento.

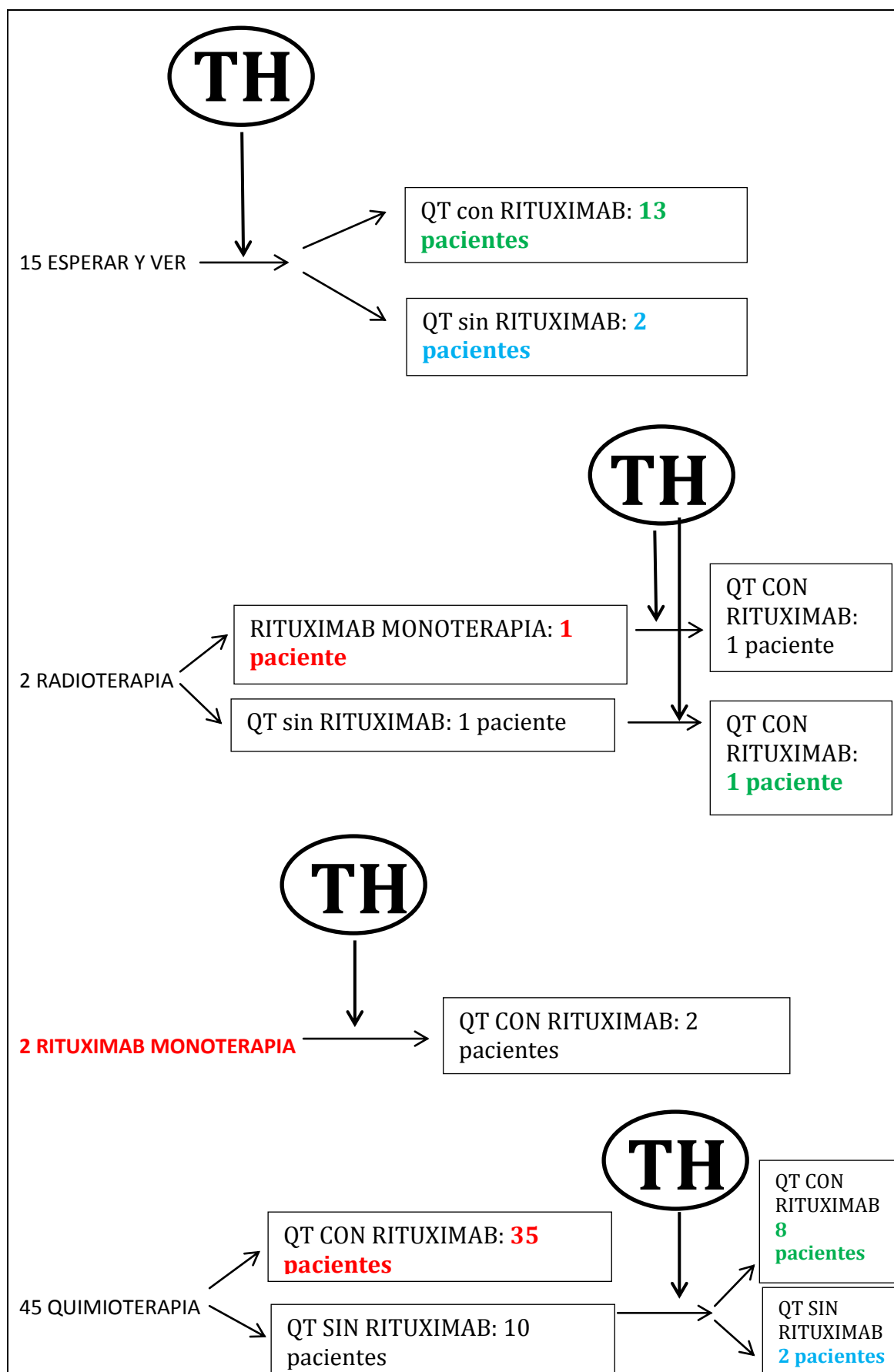
Hemos analizado los 4 pacientes que nunca recibieron rituximab frente los 60 pacientes que sí lo han recibido. La supervivencia a 5 años para los pacientes que reciben rituximab es del 64% (IC 95% 49-75%) y para los que no lo reciben es del 50% (IC 95% 5-84%) sin alcanzar al significación estadística ($p=0,28$).

Figura 19: Curva de Kaplan Meier para pacientes con rituximab o no



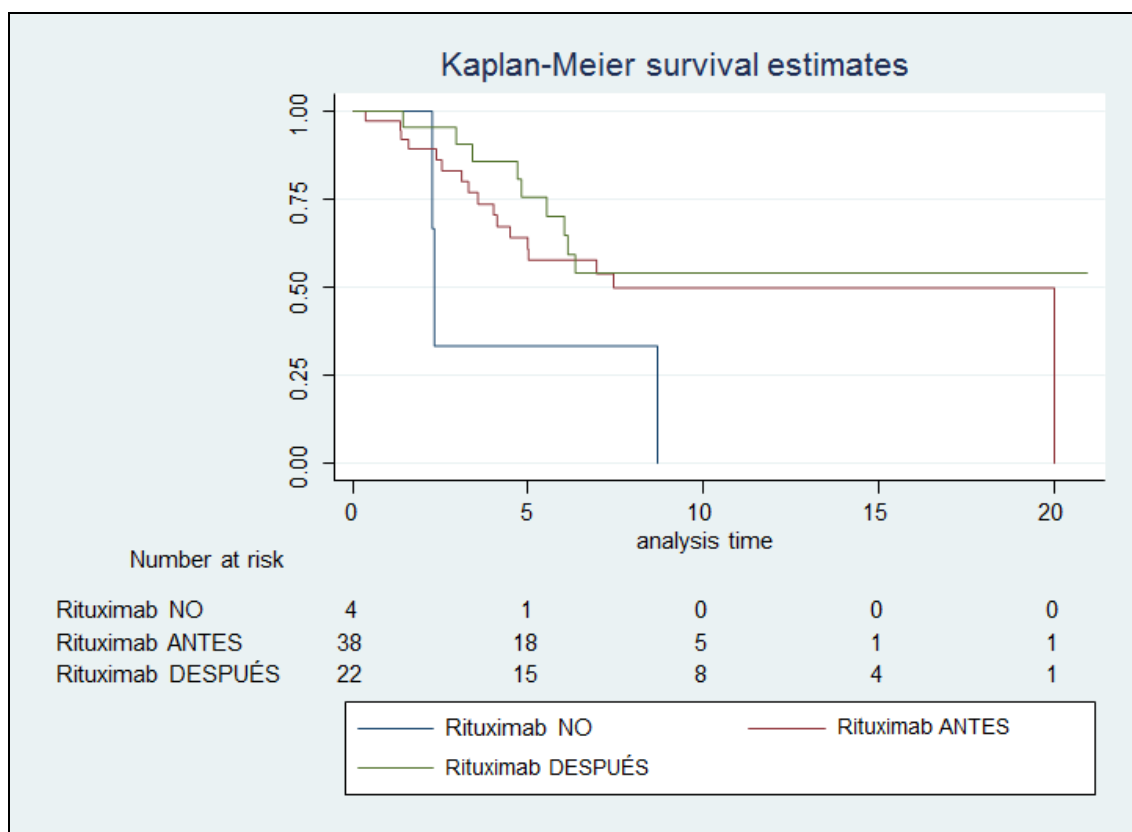
El análisis de los pacientes en función del momento en que reciben rituximab es complejo ya que existen pacientes que lo reciben solo antes de la TH, otros solo tras la TH y otros antes y después. Lo hemos representado esquemáticamente en la siguiente figura.

Figura 20: Tratamiento sin R (en azul), con R antes (en rojo) o después (en verde) de TH



De la serie global de 64 pacientes hemos analizado la supervivencia a 5 años de los que recibieron rituximab antes de la transformación histológica (38 pacientes: 35 pacientes en combinación con QT y 3 pacientes en monoterapia), los que lo hicieron después (22 pacientes, de los que 13 venían de “esperar y ver” y 1 de monoterapia con radioterapia) y los que nunca lo recibieron (4 pacientes, de los que 2 venían de “esperar y ver” y 2 de combinaciones de quimioterapia). La supervivencia a 5 años de los pacientes que recibían rituximab antes de la TH fue del 58% (IC 95% 39-72%), los que lo recibían después de la TH fue del 75% (IC 95% 51-89%) y los que no lo recibían nunca fue del 33% (IC 95% 9-77%), ($p=0,07$). Se observa como las curvas entre recibir rituximab antes o después de la TH tienden a separarse a favor de recibirlo después.

Figura 21: Curva de Kaplan Meier en función del momento del tratamiento con rituximab respecto a la transformación



En cuanto al mantenimiento con rituximab se realizó en 19 pacientes y su supervivencia a 5 años ha sido del 70% (IC 95% 43-86%) frente al 60% (IC 95% 73-42%) de los que no lo han recibido ($p=0,21$). La supervivencia a 5 años de los 11 pacientes que lo han recibido antes ha sido del 62% (IC 95% 83-27%) frente al 83% (IC 95% 97-27%) de los 8 que lo recibieron después ($p=0,26$).

Figura 22: Curva de Kaplan Meier en función de R de mantenimiento o no

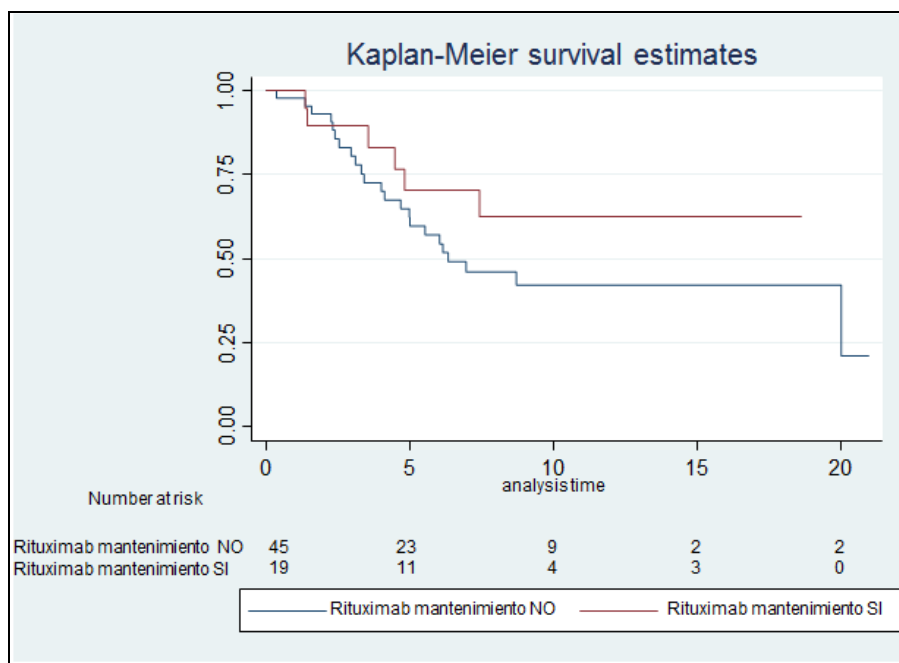
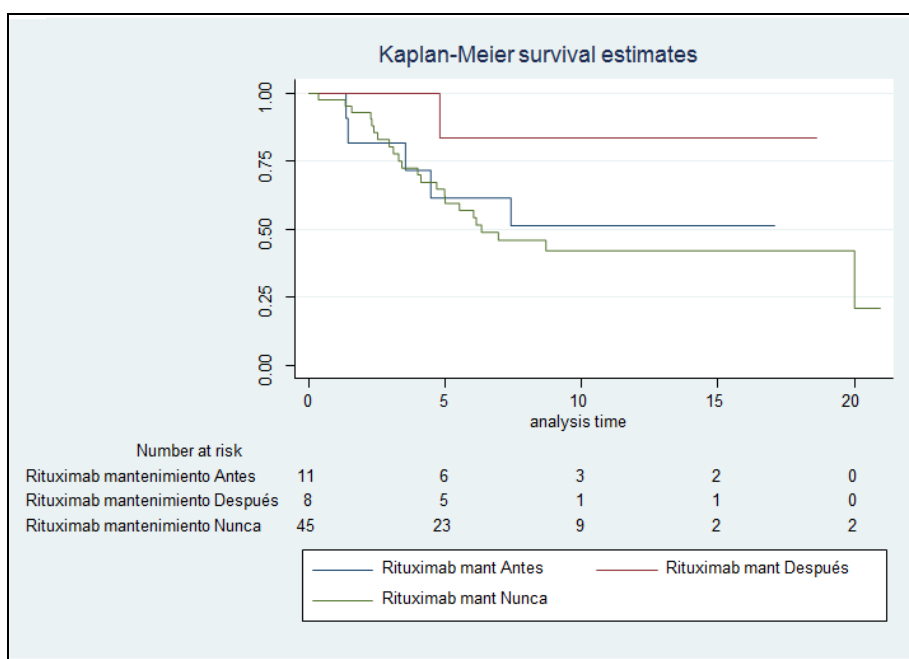


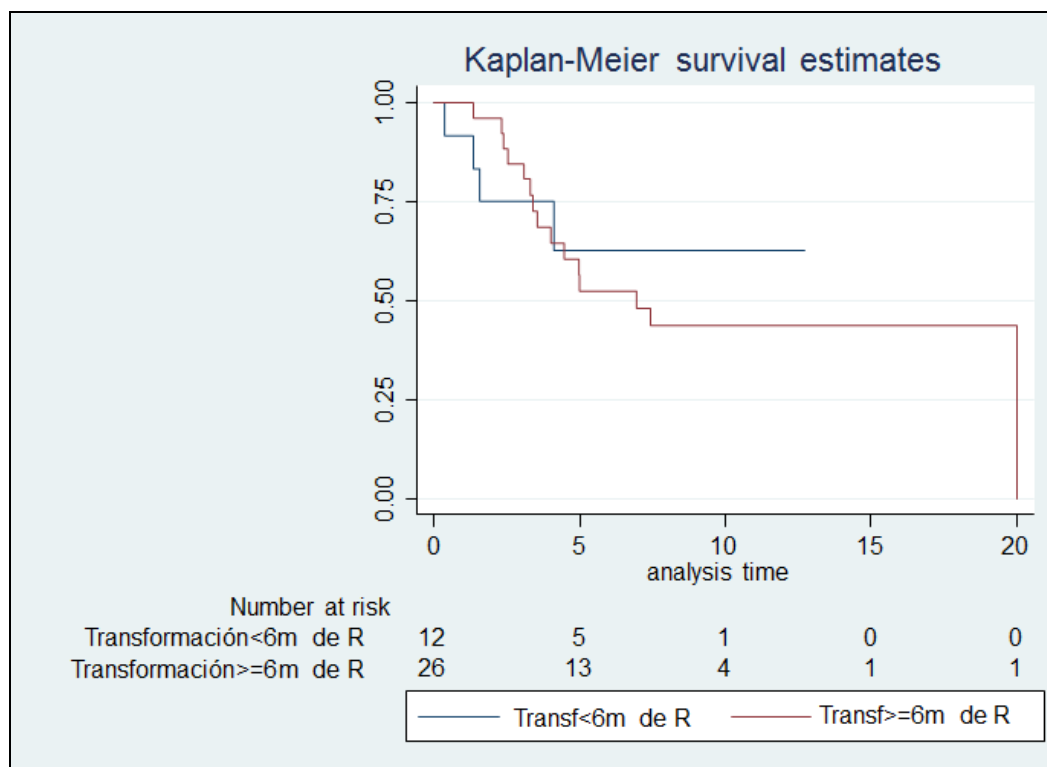
Figura 23: Curva de Kaplan Meier en función de mantenimiento con R respecto a TH



Se ha estudiado también las características de los pacientes que han recibido rituximab de mantenimiento. La mediana de duración del mismo ha sido de 24 meses aunque se han registrado 7 pacientes que han recibido menos: 1 paciente recibió solo 1 mes, otro 2 meses, 3 pacientes 3 meses, 1 paciente 4 meses y 1 paciente 7 meses. En 2 pacientes no se ha reflejado el motivo de su suspensión temprana lo que sí sabemos es que se transformaron 3 y 4 años después y que actualmente están vivos sin enfermedad. Por el contrario, en los 5 pacientes que tenemos registrado su motivo de suspensión temprana cabe destacar que 4 de ellos han fallecido. Estos 4 pacientes presentaron progresión durante el tratamiento y en un periodo inferior a 6 meses se demostró transformación histológica. El otro paciente que permanece vivo, progresó también durante el rituximab de mantenimiento pero fue tratado con radioterapia y la transformación histológica está documentada 4 años después. Una teoría a desarrollar en este contexto es si la transformación precoz tras un tratamiento con rituximab puede tener un pronóstico claramente peor que las transformaciones más tardías.

Al hilo de esto, hemos hecho un análisis sobre la supervivencia de los pacientes según el tiempo transcurrido desde la última dosis de rituximab hasta la transformación histológica. Hemos recogido 38 pacientes que habían recibido rituximab antes de la TH y los hemos dividido en 2 grupos: transformación antes o después de 6 meses tras la última dosis del fármaco. La supervivencia a 2 años del grupo que sufría transformación en los primeros 6 meses tras la última dosis de rituximab fue del 74% (IC 95% 39-90%) y la del grupo que lo hacía después fue del 85% (IC 95% 64-94%), muy cerca de alcanzar la significación estadística ($p=0,06$). El problema es que a los 4 años de seguimiento uno de las ramas (pacientes con progresión en menos de 6 meses tras rituximab) se queda solo con 5 pacientes y la tendencia objetivada en las curvas se pierde al cruzarse estas.

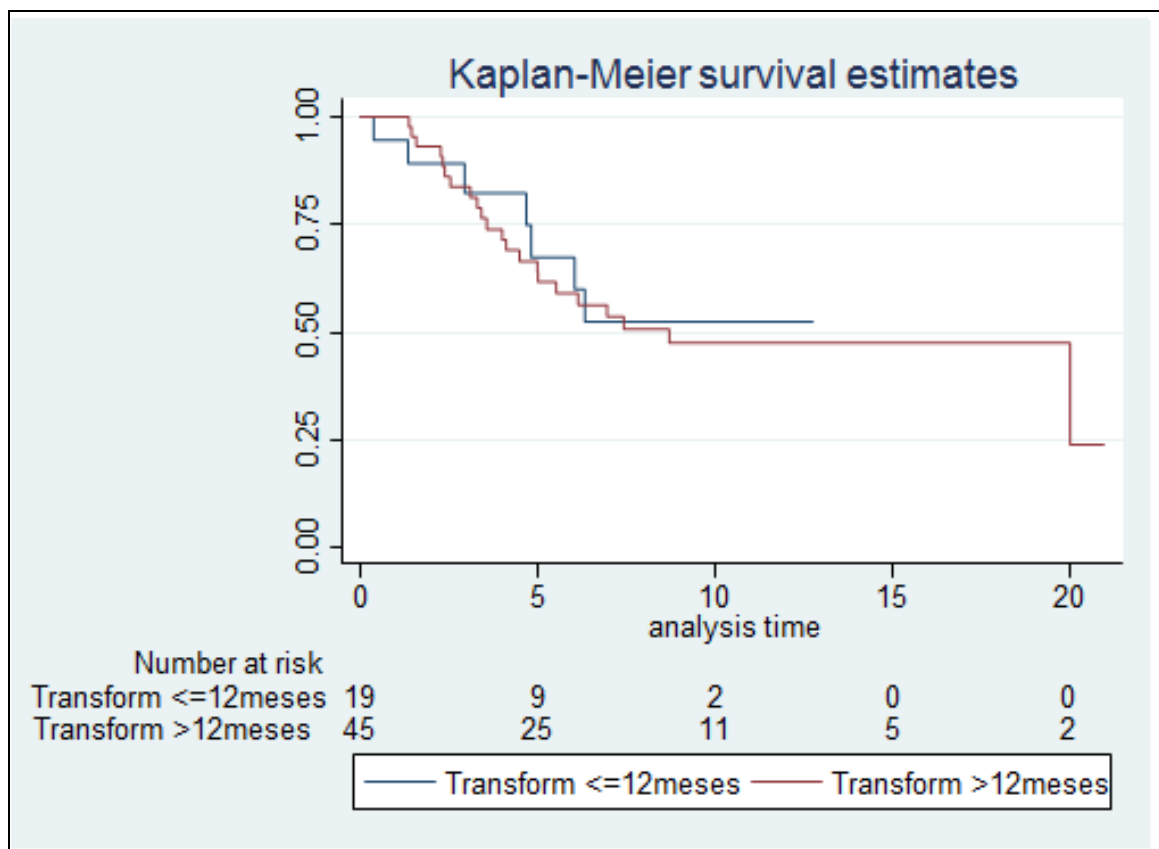
Figura 24: Curva de Kaplan Meier de pacientes con transformación antes o después de 6 meses de última dosis de rituximab



11. Transformación precoz o tardía

También hemos estudiado la supervivencia según el momento en el que se hubiese producido la transformación. Se han analizado los pacientes con transformación histológica en el primer año tras el diagnóstico de linfoma folicular frente a los que lo hacen más allá de los primeros 12 meses. La supervivencia a 5 años fue del 67% (IC 95% 85-37%) y del 59% (IC 95% 72-42%) respectivamente. Estas diferencias no alcanzaron la significación estadística ($p=0,88$).

Figura 25: Curva de Kaplan Meier de transformación antes o después de los 12 meses tras el linfoma folicular



12. Toxicidades y respuestas a los tratamientos de quimioterapia

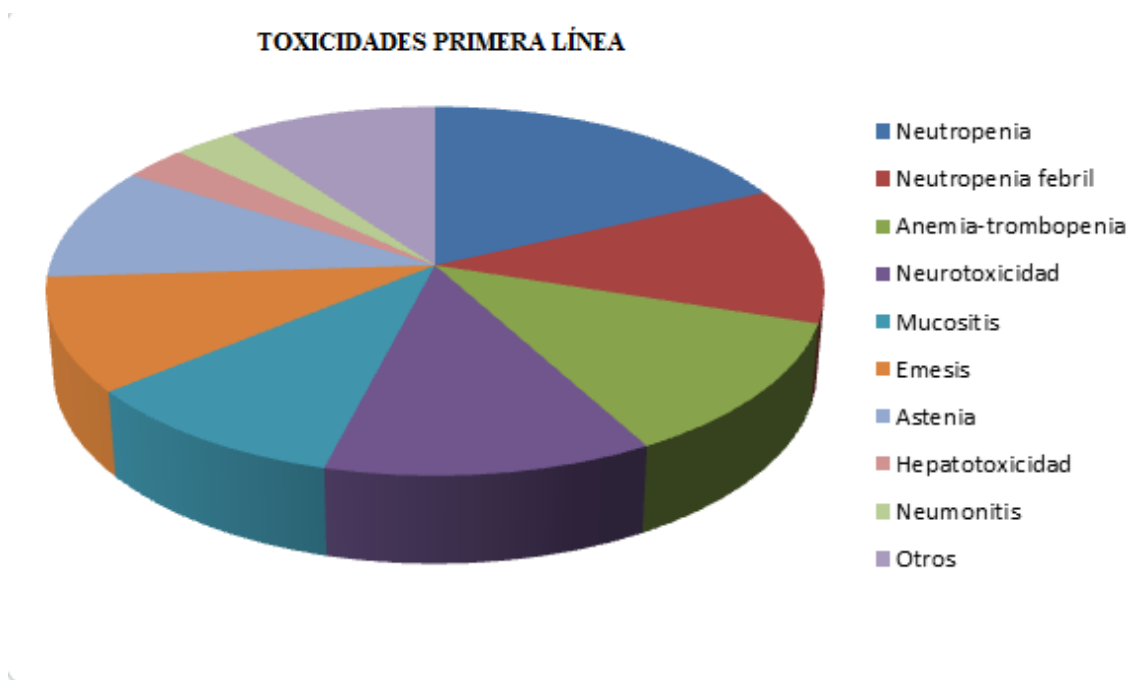
En cuanto a las toxicidades registradas en relación con el tratamiento de quimioterapia, destacar que estas van aumentando a medida que avanzamos en las líneas sucesivas de quimioterapia. También se ha objetivado que las respuestas al tratamiento van disminuyendo a la vez que va en aumento el número de pacientes que progresan.

La toxicidad global registrada para una primera línea fue del 31% (20 pacientes): 9% neutropenia (6 pacientes), 6% neutropenia febril (4 pacientes), 6% anemia-trombopenia (4 pacientes), 6% neurotoxicidad (4 pacientes), 5% mucositis (3 pacientes), 5% emesis (3 pacientes), 5% astenia (3 pacientes), 1,5% hepatotoxicidad (1 paciente), 1,5% neumonitis (1 paciente) y 5% otras (3% cardiotoxicidad y 1% perforación gástrica).

La mayoría de pacientes recibió 6 ciclos de quimioterapia (53% de los pacientes), menos de 6 ciclos en el 20% de los pacientes y más de 6 ciclos en 27%.

En cuanto a las respuestas obtenidas de esta primera línea, el 64% de los pacientes alcanzan una respuesta completa, un 32% una respuesta parcial y un 4% progresión.

Figura 26: Toxicidades registradas en la primera línea de quimioterapia

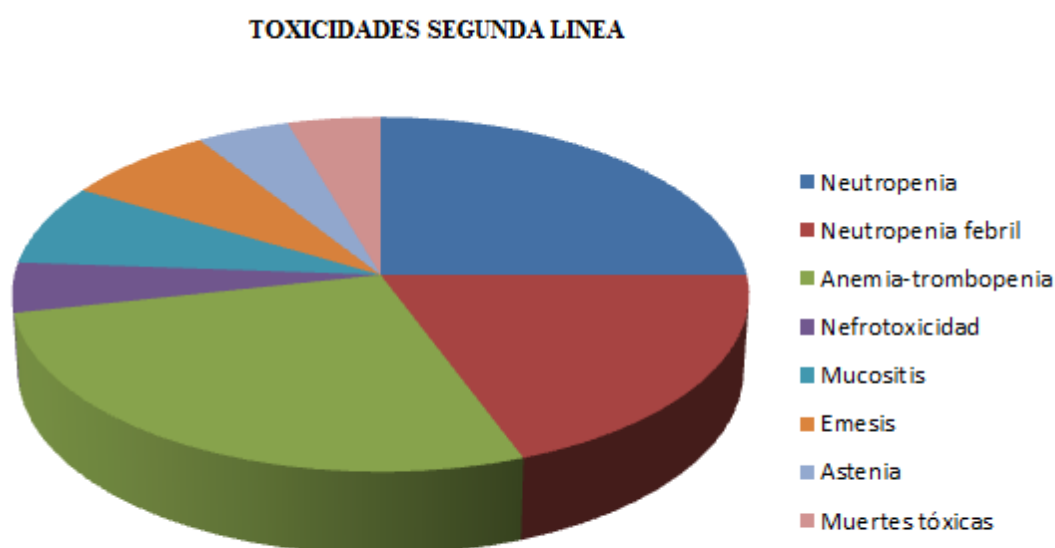


Se han registrado datos de 46 pacientes (72%) que reciben una segunda línea de tratamiento quimioterápico. La tasa global de toxicidad en estos pacientes aumenta hasta el 52% (24 pacientes). En detalle, un 24% presentan anemia-trombopenia (11 pacientes), 22% presentan neutropenia (10 pacientes), 17% neutropenia febril (8 pacientes), 6,5% de mucositis (3 pacientes), 6,5% de emesis (3 pacientes), 4% nefrotoxicidad (2 pacientes), 4% astenia (2 pacientes) y 4% muertes tóxicas.

En esta segunda línea, la mayoría de pacientes recibió 4 ciclos de tratamiento (43% de pacientes), un 21% recibió 6 ciclos y el 36% restante menos de 4 ciclos.

En cuanto a las respuestas obtenidas en segunda línea, el 45% alcanzó una respuesta completa, el 23% una respuesta parcial, un 7% estabilización de la enfermedad pero un 25% de los pacientes presentó una progresión.

Figura 27: Toxicidades registradas en la segunda línea de quimioterapia



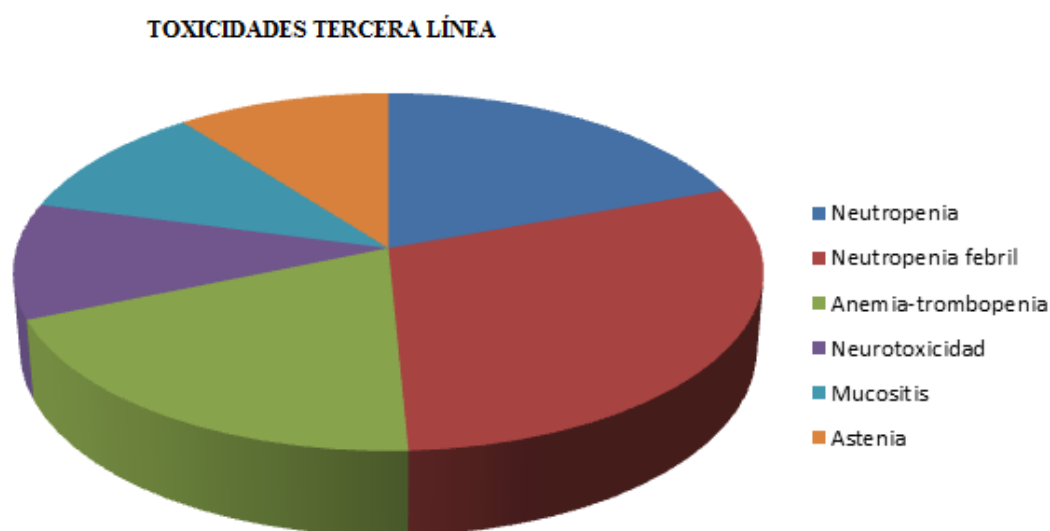
En cuanto a la tercera línea de tratamiento, se han registrado datos de 15 pacientes (23%) que reciben una tercera línea de tratamiento quimioterápico. La tasa global de toxicidad en estos pacientes fue del 47% (7 pacientes). En detalle, un 20% presentaron neutropenia febril (3 pacientes), 13% presentan anemia-trombopenia

(2 pacientes), 13% presentan neutropenia (2 pacientes), 7% neurotoxicidad (1 paciente), 7% mucositis (1 paciente) y 7% astenia (1 paciente).

En esta tercera línea, la mayoría de pacientes recibió menos de 4 ciclos de tratamiento (60% de pacientes), el 27% recibió 6 ciclos y un 13% recibió 4 ciclos.

En cuanto a las respuestas obtenidas en tercera línea, el 33% alcanzó una respuesta completa, el 20% una estabilización de la enfermedad pero un 47% de los pacientes presentó una progresión.

Figura 28: Toxicidades registradas en la tercera línea de quimioterapia



Se han registrado datos de 5 pacientes (8%) que reciben una cuarta línea de tratamiento quimioterápico. La tasa global de toxicidad en estos pacientes es del 40% (2 pacientes). En detalle, un 20% presenta neutropenia (1 pacientes) y otro 20% neutropenia febril (1 paciente).

En esta cuarta línea, la mayoría de pacientes recibió 4 ciclos de tratamiento (60% de pacientes), un 20% recibió 2 ciclos y el 20% restante recibió 3 ciclos.

En cuanto a las respuestas obtenidas en cuarta línea, el 20% alcanzó una respuesta completa, el 20% una respuesta parcial, pero un 60% de los pacientes presentó una progresión.

Solo se ha registrado un paciente que llegó a quinta línea de tratamiento pero recibió 2 ciclos y progresó.

Figura 29: Toxicidades en función de las líneas de tratamiento

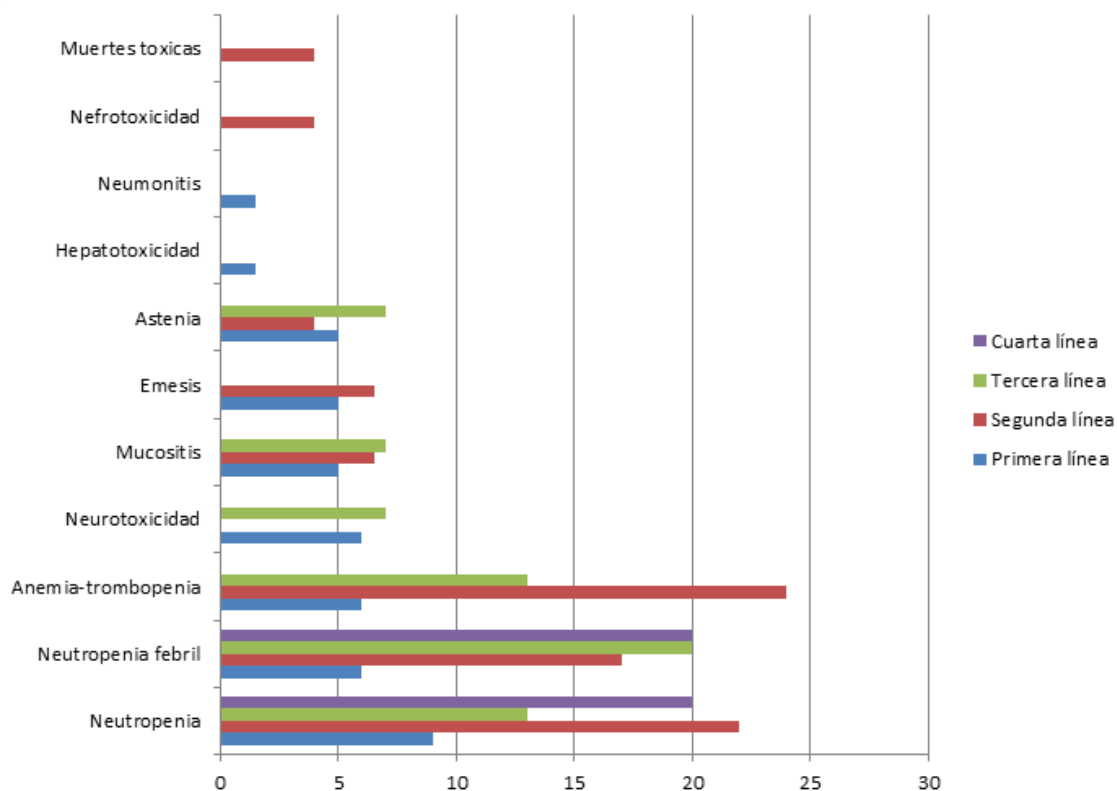
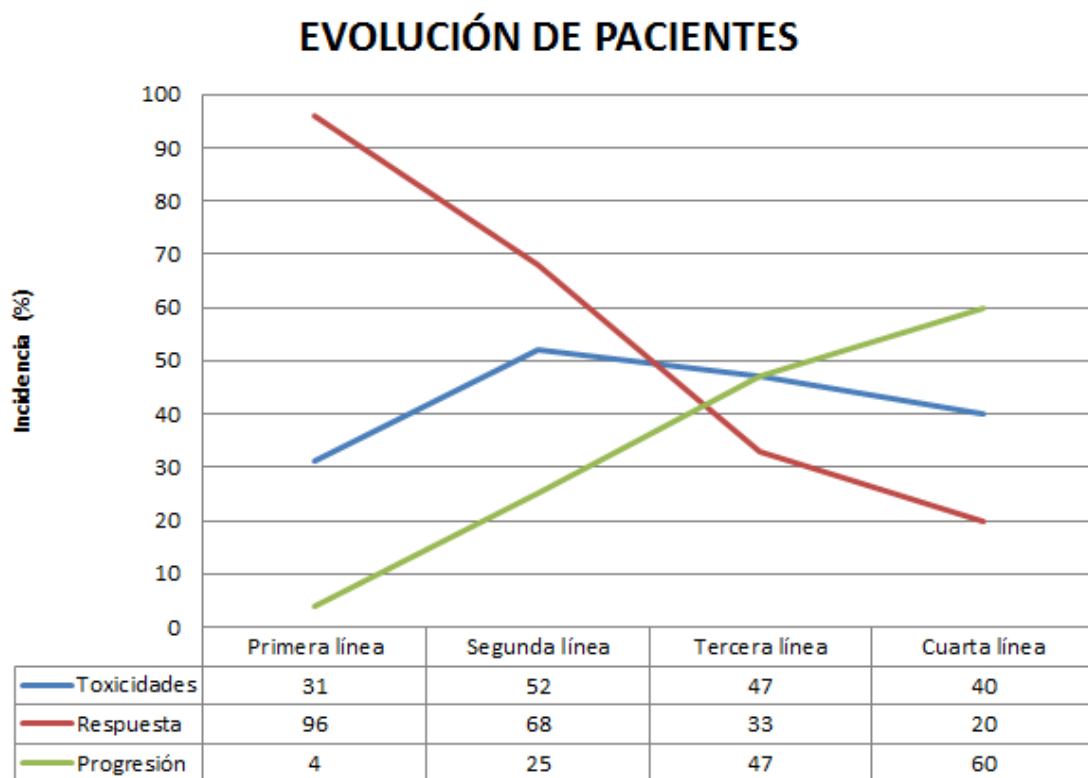


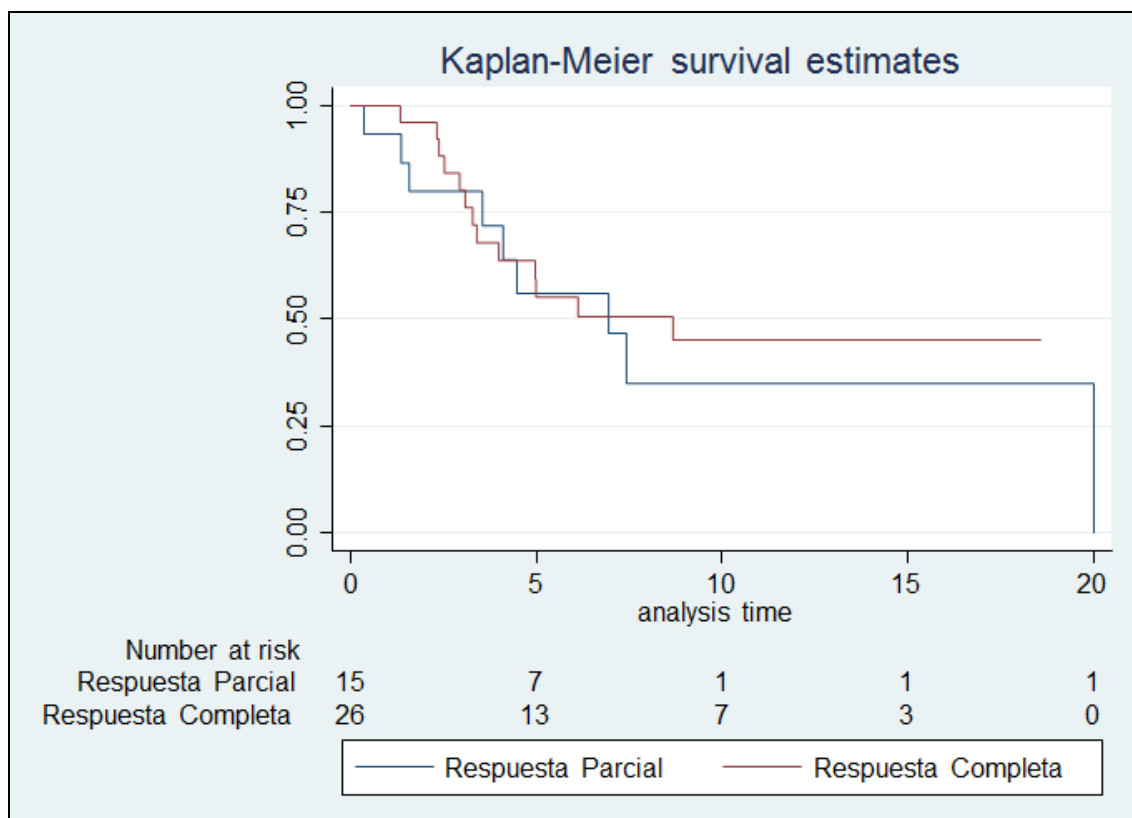
Figura 30: Evolución de los pacientes en función a la línea de quimioterapia



13. Respuesta previa a la transformación

Hemos analizado la respuesta que habían alcanzado los pacientes antes de sufrir la transformación histológica. Los primeros 2 años los pacientes que habían tenido una respuesta completa presentaban mejor supervivencia que los pacientes que habían alcanzado una respuesta parcial (en este grupo se ha incluido un paciente con estabilización de la enfermedad). El primer año con RC la supervivencia era del 96% frente al 93% de la RP, el segundo año 81% versus 79%. A partir del quinto año las supervivencias entre los dos grupos se igualan al 55% y el a partir del séptimo año cuando vuelve a mantenerse la tendencia inicial de mejor SPV para el grupo que había alcanzado previamente una respuesta completa. Debido al entrecruzamiento de las curvas y de nuevo que uno de los grupos pierde la mitad de los pacientes a 5 años, solo podemos describir la tendencia ya que no llegamos a alcanzar la significación ($p=0,2$)

Figura 31: Curvas de Kaplan Meier en función del tipo de respuesta alcanzada previa a la TH



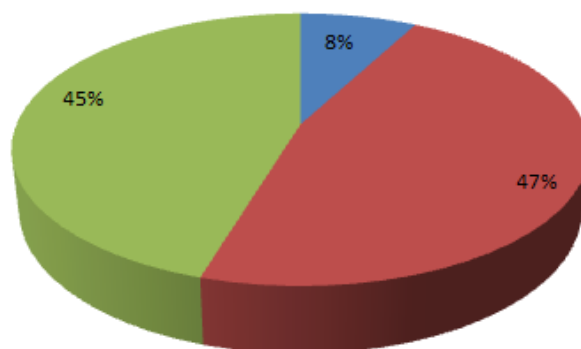
14. Estado de los pacientes

Actualmente, un 47% de los pacientes están vivos sin enfermedad, un 45% muertos y un 8% vivos con enfermedad.

Figura 32: Estado actual de los pacientes con linfoma transformado

SERIE LINFOMA FOLICULAR TRANSFORMADO

■ Vivos con enfermedad ■ Vivos sin enfermedad ■ Muertos

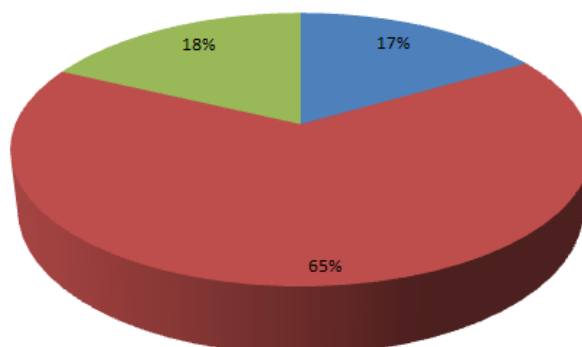


Destacar las diferencias con la serie general de 911 pacientes con linfoma folicular sin transformación en los que la mayoría de los pacientes están vivos sin enfermedad, con tasa de mortalidad del 18% frente al 45% de los pacientes con transformación histológica.

Figura 33: Estado actual de los pacientes con linfoma folicular sin transformación

SERIE GENERAL LINFOMA FOLICULAR

■ Vivo con enfermedad ■ Vivo sin enfermedad ■ Muerto



15. Transformación por sospecha clínica frente a confirmación histológica

Como hemos descrito anteriormente, no se han obtenido muestra de todos los pacientes con sospecha de transformación histológica. Se han registrado un total de 29 pacientes con tejido en el momento de la transformación histológica. Estos han sido analizados en nuestro centro y confirmado el diagnóstico.

Características clínicas iniciales

Las características iniciales de estos 29 pacientes no difieren de las características iniciales descritas para la serie completa de 64 pacientes.

Tabla 25: Antecedentes personales de pacientes con confirmación histológica de TH

Antecedentes de interés	Transformación histológica con muestra N= 29 (%)
Tóxicos	9 (31%)
Tabaco	7 (24%)
Alcohol	1 (3%)
Drogas	1 (3%)
Exposición ocupacional	2 (7%)
Asbesto	1 (3%)
Pintura	1 (3%)
Infecciones virales	5 (17%)
VHB	3 (10%)
VHC	1 (3%)
VIH	1 (3%)
Antecedentes oncológicos	5 (17%)
Carcinoma mama	2 (7%)
Carcinoma colon	2 (7%)
Carcinoma próstata	1 (3%)

También se han comparado las características iniciales al diagnóstico de linfoma folicular entre la serie con muestra y la serie sin ella. Solo la beta2 microglobulina y afectación visceral parecen ser distintas entre las dos series al diagnóstico y alcanzan la significación estadística. El resto de las características clínicas y analíticas son similares entre ambos grupos.

Tabla 26: Características iniciales de pacientes con o sin confirmación histológica

	LINFOMA FOLICULAR N=64 (%)	Linfoma transformado con muestra N=29 (%)	Linfoma transformado sin muestra N= 35 (%)	Significación estadística (p)
Edad	57	60	57	0,5
Sexo				
Varón	25 (39%)	13 (45%)	12 (34%)	0,4
Mujer	39 (61%)	16 (55%)	23 (66%)	
Estadio				
I	4 (6%)	2 (7%)	2 (6%)	0,8
II	11 (17%)	7 (24%)	4 (11%)	
III	26 (41%)	11 (37%)	15 (43%)	
IV	23 (36%)	9 (32%)	14 (40%)	
Hemoglobina				
<12	19 (30%)	10 (34%)	9 (26%)	0,5
≥12	45 (70%)	19 (66%)	26 (74%)	
LDH				
Normal	40 (63%)	16 (55%)	24 (68%)	0,3
Elevada	24 (37%)	13 (45%)	11 (32%)	
ECOG				
0	26 (41%)	11 (38%)	15 (43%)	0,9
1	34 (53%)	16 (55%)	18 (51%)	
2	4 (6%)	2 (7%)	2 (6%)	
3	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
4	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
Beta2 microglobulina				
Normal	50 (80%)	20 (69%)	30 (85%)	0,02
Elevada	12 (20%)	9 (31%)	3 (15%)	
Síntomas B				
No	40 (63%)	18 (62%)	22 (63%)	0,9
Si	24 (37%)	11 (38%)	13 (37%)	
Masa bulky				
No	50 (75%)	22 (76%)	28 (80%)	0,5
Si	14 (25%)	7 (24%)	7 (20%)	
Afectación visceral				
No	55 (86%)	28 (96%)	27 (77%)	0,02
Si	9 (14%)	1 (4%)	8 (23%)	
Afectación médula ósea				
No	45 (70%)	23 (79%)	22 (63%)	0,2
Si	19 (30%)	6 (21%)	13 (37%)	

Tratamientos recibidos

En cuanto a los tratamientos recibidos, son muy similares entre las dos poblaciones. Es levemente superior la tasa de trasplante en los pacientes con biopsia y la de esperar y ver en los que no lo tienen y el rituximab de mantenimiento.

Tabla 27: Tratamientos recibidos en pacientes con y sin confirmación histológica

	Tratamiento N= 64 (%)	Pacientes con muestra N=29 (%)	Pacientes sin muestra N=35 (%)
Esperar y ver	15 (24%)	5 (17%)	10 (28%)
Quimioterapia	64 (100%)	29 (100%)	35 (100%)
Radioterapia	14 (22%)	7 (24%)	7 (20%)
Radioinmunoconjugados	3 (5%)	1 (3%)	2 (5%)
Trasplante	22 (34%)	11 (38%)	11 (31%)
Rituximab mantenimiento	19 (30%)	7 (24%)	12 (34%)

En cuanto a las características generales de los tratamientos, no existen diferencias en cuanto a las toxicidades de los esquemas de tratamiento de quimioterapia, el número de ciclos ni las respuestas alcanzadas. En cuanto a la radioterapia, tanto las dosis como los campos son similares a la serie general. Así mismo, las pautas para el acondicionamiento previas al trasplante han sido las mismas descritas previamente.

Características clínicas en la transformación

Resultaba interesante analizar las características de los pacientes con muestra en el momento de la transformación y si eran similares a las vistas en todos los pacientes registrados como TH por criterios clínicos.

Presentan diferencias estadísticamente significativas en criterios analíticos como descenso de hemoglobina (más frecuentemente cifras inferiores de hemoglobina en los pacientes con confirmación histológica) y en criterios clínicos como presencia de síntomas B (más frecuentes en los pacientes sin muestra) y afectación visceral (más frecuentes en grupo de pacientes sin muestra). Este último criterio ya resultaba significativo en el momento del diagnóstico de linfoma folicular.

Tabla 28: Características clínicas en pacientes con y sin confirmación histológica

	LINFOMA TRANSFORMADO N=64 (%)	Linfoma transformado con muestra N=29 (%)	Linfoma transformado sin muestra N=35 (%)	Significación estadística (p)
Edad	62	62	62	0,5
Estadio				
I	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0,6
II	13 (20%)	8 (28%)	5 (14%)	
III	25 (39%)	10 (34%)	15 (43%)	
IV	26 (41%)	11 (38%)	15 (43%)	
Hemoglobina				
<12	26 (41%)	17 (59%)	9 (26%)	0,01
≥12	38 (59%)	12 (41%)	26 (74%)	
LDH				
Normal	17 (27%)	9 (31%)	8 (23%)	0,6
Elevada	47 (73%)	20 (69%)	27 (77%)	
ECOG				
0	11 (17%)	7 (24%)	4 (11%)	0,6
1	37 (58%)	13 (45%)	24 (69%)	
2	14 (22%)	8 (28%)	6 (17%)	
3	2 (3%)	1 (3%)	1 (3%)	
4	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
Beta2 microglobulina				
Normal	34 (55%)	12 (41%)	22 (63%)	0,1
Elevada	28 (45%)	14 (59%)	14 (37%)	
Síntomas B				
No	22 (34%)	15 (52%)	7 (20%)	0,01
Si	42 (66%)	14 (48%)	28 (80%)	
Masa bulky				
No	45 (70%)	21 (72%)	24 (69%)	0,5
Si	19 (30%)	8 (28%)	11 (31%)	
Afectación visceral				
No	48 (75%)	26 (90%)	22 (63%)	0,005
Si	16 (25%)	3 (10%)	13 (37%)	

La mediana de tiempo hasta la transformación fue de 24,3 meses en la serie con muestra histológica y 24,4 meses en la serie sin muestra.

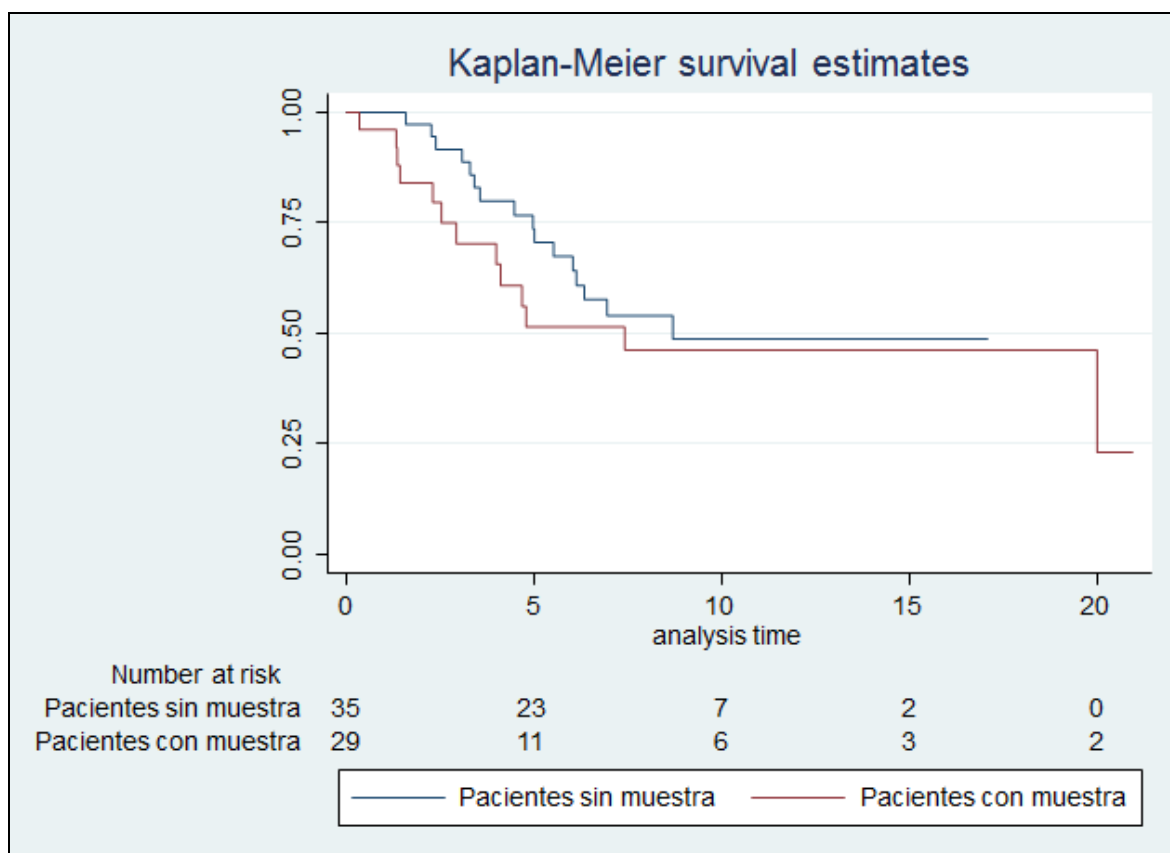
También se registró si los pacientes con muestra histológica habían acudido a consulta con aparición de síntomas nuevos o el diagnóstico de transformación histológica se había producido en una revisión normal. El 52% de los pacientes presentaban síntomas nuevos, sobre todo en un 53% crecimiento ganglionar rápido en zonas previamente afectas o en otras localizaciones y en un 33% deterioro del estado general (astenia, anorexia, aparición de síntomas B). El 13% de los pacientes con síntomas nuevos presentaron aparición de masas ganglionares.

Supervivencia de ambas poblaciones

En la serie general de 64 pacientes con TH las SPV a 1, 3, 5 y 10 años fueron de 96% (IC 95% 87-99%), 83% (IC 95% 70-90%), 66% (IC 95% 51-76%) y 50% (IC 95% 35-64%) respectivamente.

En la serie con confirmación histológica la SPV a 1, 3, 5 y 10 años han sido de 96% (IC 95% 76-99%), 72% (IC 95% 50-80%), 51% (IC 95% 30-69%) y 46% (IC 95% 26-65%). En la serie sin muestra la SPV a 1, 3, 5 y 10 años ha sido de 97% (IC 95% 82-99%), 91% (IC 95% 76-97%), 71% (IC 95% 52-83%) y 48% (IC 95% 29-65%). Estas diferencias no alcanzan la significación ($p=0,4$) pero en las curvas se ve que los pacientes con muestra presentan a lo largo del seguimiento supervivencias levemente peores.

Figura 34: Curvas de Kaplan Meier de pacientes con y sin confirmación histológica de TH



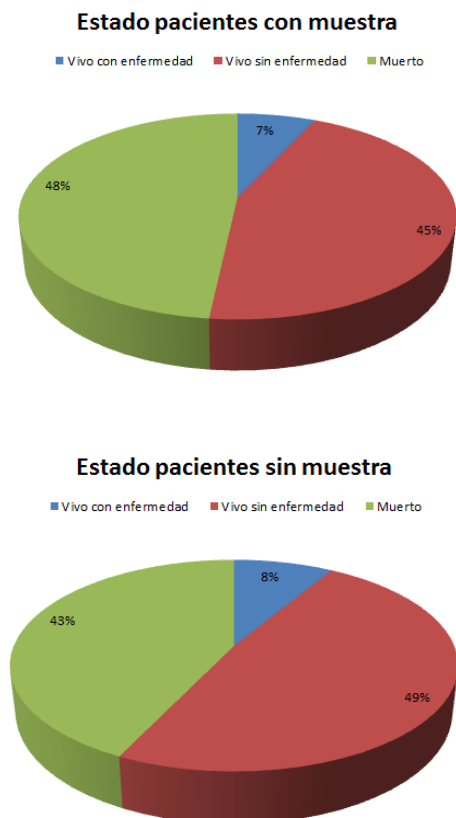
Estado actual de los enfermos

En cuanto a la situación general de los enfermos, un 48% están muertos, un 45% vivos sin enfermedad y un 7% vivos con enfermedad. Parece que los pacientes con muestra histológica tienen un porcentaje mayor de muertes que los que no tienen muestra, que a su vez parecen presentar un porcentaje mayor de pacientes vivos sin enfermedad. Estas diferencias no alcanzan significación estadística ($p=0,9$).

Tabla 29: Estado de los pacientes con y sin confirmación histológica de TH

	LINFOMA TRANSFORMADO N=64 (%)	Linfoma transformado con muestra N=29 (%)	Linfoma transformado sin muestra N=35 (%)
Vivos sin enfermedad	30 (47%)	13 (45%)	17 (49%)
Vivos con enfermedad	5 (8%)	2 (7%)	3 (8%)
Muertos	29 (45%)	14 (48%)	15 (43%)

Figura 35: Estado de los pacientes con y sin confirmación histológica de TH



16. Factores pronósticos tras la transformación

En el momento en que los pacientes eran diagnosticados de TH se recogían de nuevo las características clínicas y analíticas, así como los índices pronósticos FLIPI e IPI. Al seguir a los pacientes en el tiempo pudimos llevar a cabo un análisis sobre si algún factor recogido tenía impacto en la supervivencia de los enfermos. Para ello separamos a los pacientes en vivos o fallecidos y analizamos el peso de cada factor en su estado, representado por la Odds Ratio y su intervalo de confianza al 95%.

Los factores que alcanzaron significación estadística fueron el presentar un estadio IV (OR 4,5; IC 95% 1,3-15, $p=0,02$) y ECOG ≥ 2 (OR 2,4; IC 95% 1,1-5,2, $p=0,02$) en el momento de la TH. La beta2 microglobulina normal mostraba un efecto “protector” si su valor estaba normal en el momento de la TH (OR 0,3; IC 95% 0,2-0,8, $p=0,01$).

Analizamos si el valor del FLIPI o el IPI estaban relacionadas con la situación de fallecido o vivo del paciente y ninguna de las dos escalas pronósticas parecía predecir el estado del enfermo tras la transformación.

Tabla 30: Características pronósticas en el momento de la transformación

	Pacientes vivos N=35 (%)	Pacientes fallecidos N=29 (%)	OR (IC 95%)	Significación estadística (p)
Edad				
<60 años	15 (56%)	12 (44%)	1,4 (0,7-2,9)	0,3
≥60 años	20 (54%)	17 (46%)		
Sexo				
Varón	14 (56%)	11 (44%)	1 (0,5-2,1)	0,9
Mujer	21 (54%)	18 (46%)		
Estadio				
II	10 (77%)	3 (23%)	Cat. ref 1,7 (0,5-6,3) 4,5 (1,3-15)	0,4 0,02
III	15 (60%)	10 (40%)		
IV	10 (38%)	16 (62%)		
Hemoglobina				
<12	19 (73%)	7 (27%)	2,3 (0,9-5,4)	0,06
≥12	16 (42%)	22 (58%)		
LDH				
Normal	11 (65%)	6 (35%)	0,6 (0,2-1,4)	0,2
Elevada	24 (51%)	23 (49%)		
ECOG				
0-1	29 (60%)	19 (40%)	2,4 (1,1-5,2)	0,02
≥2	6 (37%)	10 (63%)		
Beta2 microglobulina				
Normal	23 (68%)	11 (32%)	0,3 (0,2-0,8)	0,01
Elevada	11 (40%)	17 (60%)		
Síntomas B				
No	16 (73%)	6 (27%)	2,1 (0,9-5,3)	0,08
Si	19 (45%)	23 (55%)		
Masa bulky				
No	26 (58%)	19 (42%)	1,7 (0,8-3,7)	0,2
Si	9 (47%)	10 (53%)		
Afectación visceral				
No	28 (58%)	20 (42%)	1,9 (0,8-4,3)	0,09
Si	7 (44%)	9 (56%)		
FLIPI				
0-1	3 (43%)	4 (57%)	Cat. ref 0,7 (0,1-4) 0,9 (0,3-2,7)	0,7 0,9
2	4 (67%)	2 (33%)		
3-5	28 (55%)	23 (45%)		
IPI				
0-1	7 (50%)	7 (50%)	Cat. ref 0,9 (0,4-2,3) 1,6 (0,5-4,5)	0,9 0,3
2-3	21 (58%)	15 (42%)		
4-5	7 (50%)	7 (50%)		

17. Análisis molecular con/sin transformación

De los 64 pacientes transformados, como se ha detallado anteriormente, se obtuvo material al diagnóstico de LF y LFt en 29 pacientes. Posteriormente se llevó a cabo la secuenciación en las muestras iniciales de LF y tras la transformación, siendo 22 de ellas válidas y 7 sin material suficiente para su análisis. Se utilizaron para comparar 20 muestras de LF de pacientes con más de 5 años de seguimiento y sin sospecha de transformación. De los 110 genes estudiados, se han encontrado mutaciones en los pacientes con y sin transformación en 74 genes específicos que se detallan a continuación en la tabla 31. Se han resaltado las mutaciones más prevalentes, considerando aquellas que estaban presentes en el 10% de la muestra (≥ 4 pacientes) de 44 pacientes analizados (22 LFt y 20 LF sin transformación-LFnt). También se han añadido los genes que estando mutados en 3 pacientes (7%) presentaban más de 4 mutaciones en total (*EZH2*, *PCLO* y *TNFAIP3*). Así se han obtenido 22 genes recurrentemente mutados: *ATM*, *BCL2*, *BCL7A*, *CREBBP*, *CSMD3*, *DTX1*, *EP300*, *EZH2*, *FOXO1*, *HIST1H1E*, *IGLL5*, *IRF8*, *LRP1B*, *MLL2/KMT2D*, *MLL3/KMT2C*, *NOTCH2*, *PAX5*, *PCLO*, *PIM1*, *POU2F2*, *TNFAIP3* y *TNFRSF14*.

Se han estudiado las diferencias entre el número de mutaciones en estos genes en pacientes que sufren la transformación frente a los que no la sufren y solo alcanza la significación *POU2F2*, probablemente debido al tamaño muestral. Lo que sí se ha encontrado es que entre los genes con más carga mutacional estarían los genes típicamente descritos en la patogénesis del linfoma folicular, además de genes relacionados con LBDCG y LF.

Existen genes con más mutaciones en LFt que en LFnt, para considerarlos así se han recogido los que presentan 2 mutaciones más en pacientes con LFt. Son 14 genes los que cumplen esta característica: ***ATM*** (1 mutación en LFnt vs 4 mutaciones en LFt), ***BCL7A*** (1 mutación en LFnt vs 4 en LFt), ***CSMD3*** (1 mutación en LFnt vs 5 en LFt), ***DTX1*** (1 mutación en LFnt vs 5 en LFt), ***EZH2*** (1 mutación en LFnt vs 3 en LFt), ***FOXO1*** (3 mutaciones en LFnt vs 5 en LFt), ***HIST1H1E*** (1 mutación en LFnt vs 5 en LFt), ***IRF8*** (1 mutación en LFnt vs 3 en LFt), ***LRP1B*** (1 mutación en LFnt vs 4 en LFt), ***NOTCH2*** (1 mutación en LFnt vs 4 en LFt), ***PCLO*** (0 mutaciones en LFnt vs 4 en LFt), ***PIM1*** (1 mutación en LFnt vs 3 en LFt), ***POU2F2*** (0 mutaciones en LFnt vs 4 en LFt) y ***TNFAIP3*** (1 mutación en LFnt vs 4 en LFt).

Tabla 31: Genes estudiados y mutaciones en LfT y Lfnt

GENES	MUTACIÓN EN NO TRANSFORMADOS (Nº PACIENTES CON MUTACIONES*)	MUTACIÓN EN TRANSFORMADOS (Nº PACIENTES CON MUTACIONES*)	Significación estadística
ABCA3	SI (1)	SI (2)	0,6
APC	SI (2)	SI (1)	0,5
ARID1A	SI (1)	SI (1)	0,9
ARID1B	SI (2)	NO	0,1
ARID3B	SI (1)	SI (2)	0,6
ATM	SI (1)	SI (3: 2 pacientes 1 y 1 paciente 2 mutaciones)	0,3
B2M	NO	SI (1)	0,3
BCL10	NO	SI (1)	0,3
BCL2	SI (6: 5 pacientes 1 y 1 paciente 2 mutaciones)	SI (5: 4 pacientes 1 y 1 paciente 2 mutaciones)	0,6
BCL7A	SI (1)	SI (3: 2 pacientes 1 y 1 paciente 2 mutaciones)	0,3
BCOR	SI (1)	NO	0,3
BIRC3	NO	SI (1)	0,3
BRAF	SI (1: con 3 mutaciones)	NO	0,3
BTG1	SI (1: con 2 mutaciones)	SI (1: con 1 mutación)	0,9
CARD11	SI (1)	SI (2)	0,6
CD70	NO	SI (2)	0,2
CDKN2A	SI (1)	NO	0,3
CITTA	SI (1)	SI (1)	0,9
CREBBP	SI (14: 12 con 1, 1 con 2 y 1 con 3 mutaciones)	SI (11: 10 con 1 y 1 con 2 mutaciones)	0,1
CSF2RB	NO	SI (2)	0,1
CSMD1	SI (1)	NO	0,3
CSMD3	SI (1)	SI (4: 3 con 1 y 1 con 2 mutaciones)	0,2
DDX3X	SI (1)	NO	0,3
DMXL1	SI (1)	SI (2)	0,6
DTX1	SI (1)	SI (4: 3 con 1 y 1 con 2 mutaciones)	0,1
EP300	SI (3: 2 con 1 y 1 con 2 mutaciones)	SI (4: 3 con 1 y 1 con 2 mutaciones)	0,8
EPHA4	NO	SI (2: con 1 mutación)	0,2
EPHA7	SI (2: con 1 mutación)	NO	0,1
ERBB2	NO	SI (1)	0,3
ERBB4	SI (1)	SI (1)	0,9
ETS1	NO	SI (1)	0,3
EZH2	SI (1)	SI (2: 1 con 1 y 1 con 2 mutaciones)	0,6
FANCD2	NO	SI (1)	0,3
FAS	NO	SI (1)	0,3
FAT2	SI (2: con 1 mutación)	NO	0,1
FBX011	NO	SI (1)	0,3
FOXO1	SI (3: con 1 mutación)	SI (4: 3 con 1 y 1 con 2 mutaciones)	0,7
GNA13	SI (1)	SI (1)	0,9
GRM5	SI (1)	NO	0,3
HIST1H1C	SI (1)	SI (2)	0,6
HIST1H1E	SI (1)	SI (3: 2 con 1 y 1 con 3 mutaciones)	0,3
IGLL5	SI (6: 5 con 1 y 1 con 2 mutaciones)	SI (4: 3 con 1 y 1 con 2 mutaciones)	0,4
IRF8	SI (1)	SI (3: con 1 mutación)	0,3
KIT	NO	SI (1)	0,3
KLHL6	SI (1 con 2 mutaciones)	SI (1)	0,9
KMT2C	SI (1)	NO	0,3
KMT2D	SI (1)	NO	0,3
KRAS	SI (1)	NO	0,3
LRP1B	SI (1)	SI (4 con 1 mutación)	0,2
MEF2B	NO	SI (2)	0,2
MLL2/KMT2D	SI (10: 8 con 1 y 2 con 2 mutaciones)	SI (10: 8 con 1 y 2 con 2 mutaciones)	0,8
MLL3/KMT2C	SI (3 con 1 mutación)	SI (2 con 1 mutación)	0,5
NOTCH2	SI (1)	SI (4 con 1 mutación)	0,2
PAX5	SI (2 con 1 mutación)	SI (3 con 1 mutación)	0,7
PCLO	NO	SI (3: 2 con 1 mutación y 1 con 2)	0,1
PIK3CA	SI (1)	NO	0,3
PIK3CD	SI (1)	NO	0,3
PIK3R1	NO	SI (1)	0,3
PIM1	SI (1)	SI (3)	0,6
PLEKHG5	NO	SI (1)	0,3
POU2F2	NO	SI (4 con 1 mutación)	0,04
PRDM16	NO	SI (1)	0,3
PTEN	SI (2)	NO	0,1
RHOA	NO	SI (1)	0,3
SF3B1	SI (1)	NO	0,3
SGK1	NO	SI (1)	0,3
SOC1	SI (1)	SI (1 con 2 mutaciones)	0,9
STAT6	SI (1)	NO	0,3
TMEM30A	SI (2)	SI (1)	0,5
TNFAIP3	SI (1)	SI (2: 1 con 1 y 1 con 3 mutaciones)	0,6
TNFRSF14	SI (3: 2 con 1 y 1 con 2 mutaciones)	SI (3 con 1 mutación)	0,8
TP53	NO	SI (1)	0,3
TP73	SI (1)	SI (2)	0,6
UNC5D	NO	SI (1)	0,3

*: Las casillas en las que no se especifica número de mutación/paciente es igual a 1

Tabla 32: Genes más frecuentemente mutados en LFt y LFnt

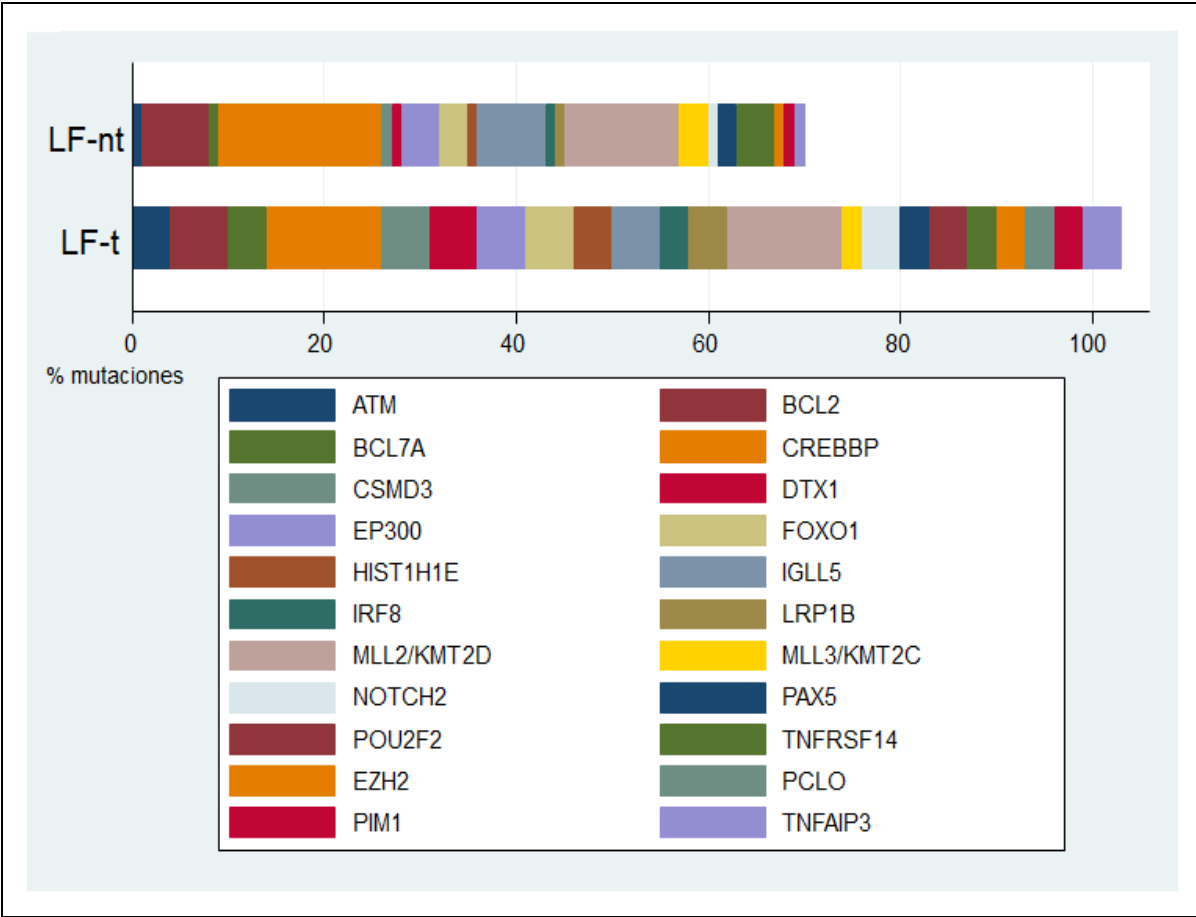
Genes más mutados en LFt y LFnt	BCL2	Regulador de la apoptosis
	CREBBP	Codifica una proteína de unión con CREB
	EP300	Codifica una proteína de unión con E1A
	IgLL5	Immunoglobulin lambda like polypeptide 5
	MLL2/KMT2D	Codifica una metiltransferasa de histona
	MLL3/KMT2C	Codifica una metiltransferasa de histona
	PAX5	Codifica un factor transcripcional
	TNFRSF14	Codifica un miembro del TNF (factor de necrosis tumoral)
Genes más mutados y más frecuentes en LFt	ATM	Codifica miembro de PI3/PI4 quinasa (control del ciclo celular)
	BCL7A	Supresor tumoral 7A
	CSMD3	CUB Sushi multiple domains 3
	DTX1	Regulador de la vía de señalización Notch
	EZH2	Codifica un miembro de la familia del Polycomb
	FOXO1	Codifica factor de transcripción
	HIST1H1E	Miembro E de la familia de la histona H1
	IRF8	Factor 8 de regulación del interferón
	LRP1B	Codifica un receptor de lipoproteína de baja densidad (LDL)
	NOTCH2	Miembro de familia Notch
	PCLO	Parte del citoesqueleto de la matriz celular
	PIM1	Miembro de la familia proteína quinasa Ser/Thr
	POU2F2	Factor de transcripción de la familia POU
	TNFAIP3	Codifica la proteína 3 inducida por TNF alfa

Tabla 33: Frecuencia de mutaciones en la cohorte general y en LFnt y LFt

		Mutaciones en serie general (% pacientes) N=42	Mutaciones en LFnt (% pacientes) N=20	Mutaciones en LFt (% pacientes) N=22
Genes más mutados en LFt y LFnt	BCL2	24	30	23
	CREBBP	59	70	50
	EP300	17	15	18
	IGLL5	24	30	18
	MLL2/KMT2D	48	50	45
	MLL3/KMT2C	12	15	9
	PAX5	12	10	14
	TNFRSF14	14	15	14
Genes más mutados y más frecuentes en LFt	ATM	10	5	14
	BCL7A	10	5	14
	CSMD3	12	5	18
	DTX1	12	5	18
	EZH2	7	5	9
	FOXO1	17	15	18
	HIST1H1E	10	5	14
	IRF8	10	5	14
	LRP1B	12	5	18
	NOTCH2	12	5	18
	PCLO	7	0	14
	PIM1	10	5	18
	POU2F2	10	0	18
	TNFAIP3	7	5	9

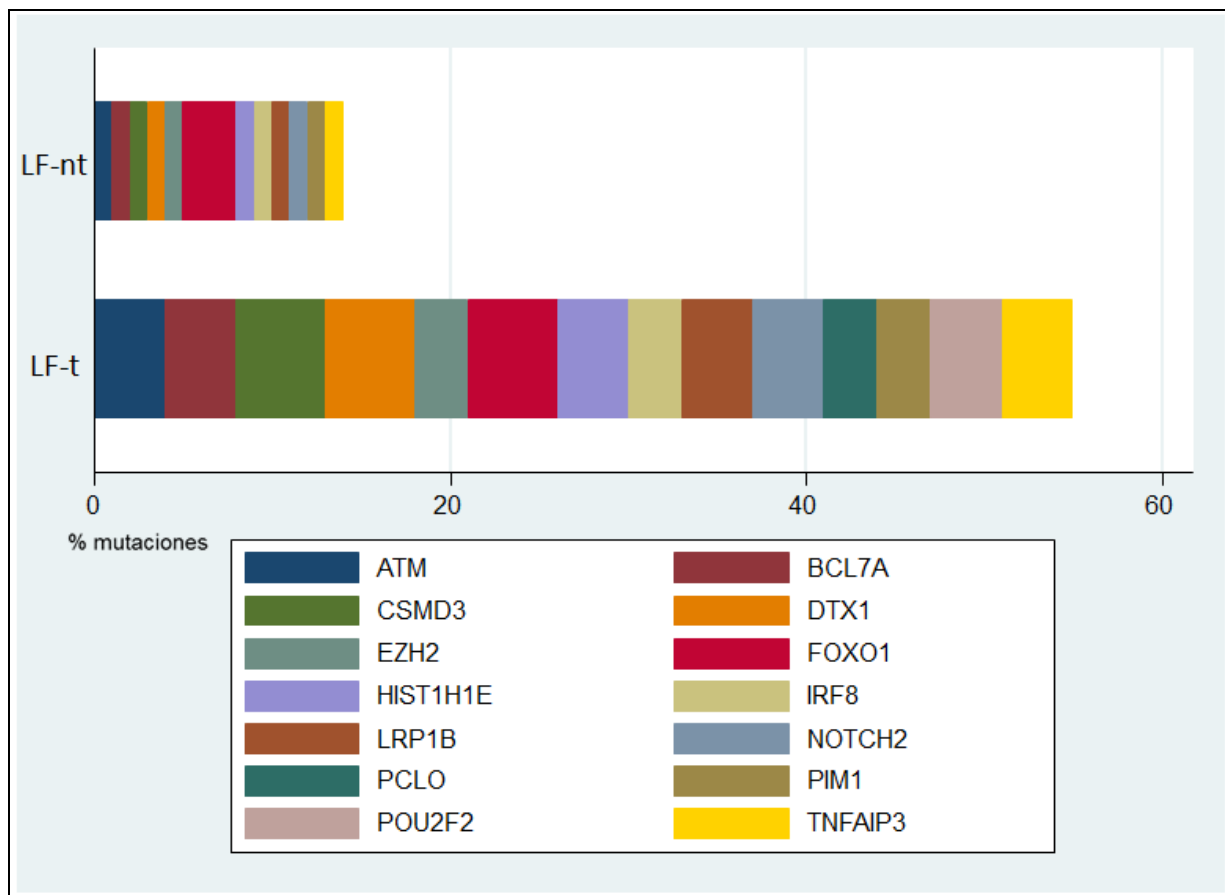
De forma gráfica se representan los 22 genes con alta carga mutacional en las dos poblaciones (pacientes con transformación y sin ella).

Figura 36: Genes mutados frecuentemente en LFt y LFnt



De forma detallada se representan los 14 genes más frecuentemente mutados en pacientes que sufren transformación.

Figura 37: Genes con diferencia en el número de mutaciones en pacientes con TH frente a pacientes sin TH



Posteriormente se ha intentado crear un índice pronóstico considerando los genes que presentaban 1 mutación más en pacientes que sufrían transformación frente a los que lo sufrían. Se ha eliminado así genes que estaban solo presentes en LFnt o que presentaban un número igual en LFt y LFnt. El valor del índice pronóstico es el número de mutaciones de los genes que cumplían nuestro criterio. Lo que se ha podido observar es que con más de 4 mutaciones todos los pacientes presentaban una transformación histológica.

Tabla 34: Índice pronóstico en base a genes mutados en transformados y no transformados

Valor de índice pronóstico (nº de mutaciones)	Pacientes no transformados (n=20)	Pacientes transformados (n=22)	Total
0	2	2	4
1	12	2	14
2	2	3	5
3	4	2	6
4	0	5	5
5	0	5	5
7	0	2	2
11	0	1	1

Considerando que presentar ≥ 4 mutaciones puede ser un test para pronosticar transformación, se ha calculado la sensibilidad y especificidad en base a esta suposición.

Tabla 35: Pacientes transformados y no transformados en función de más o menos de 4 mutaciones

	TRANSFORMADOS	NO TRANSFORMADOS	TOTAL
≥ 4 MUTACIONES	13	0	13
< 4 MUTACIONES	9	20	29

--	--

Sensibilidad	59%
Especificidad	100%
Valor predictivo positivo	100%
Valor predictivo negativo	69%

Se ha visto que con más de 4 mutaciones solo tenemos pacientes con transformación histológica y estos son 13. Se ha intentado elaborar una firma genética de estos pacientes y de nuevo existen genes con más alto número de mutaciones, en concreto 12 (*ATM*, *BCL2*, *CREBBP*, *DTX1*, *FOXO1*, *HIST1H1E*, *IGLL5*, *LRP1B*, *MLL2/KMT2D*, *NOTCH2*, *PCLO*, *POU2F2*) que forman parte de los 22 genes iniciales con alta prevalencia de mutaciones para todos los 42 pacientes. Más concretamente de esos 12 genes, 8 se habían registrado en el grupo de más frecuentemente mutados en transformados (*ATM*, *DTX1*, *FOXO1*, *HIST1H1E*, *LRP1B*, *NOTCH2*, *PCLO*, *POU2F2*).

Tabla 37: Firma genética de pacientes con ≥ 4 mutaciones

[illegible]

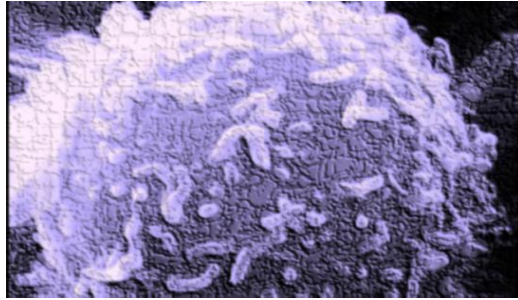
De igual forma se han analizado las características de los 22 pacientes transformados, centrándose en los 14 genes identificados como posibles predictores de TH.

Tabla 38: Firma genética de los 22 pacientes transformados

pacientes	ATM	BCL7A	CSMD3	DTX1	EZH2	FOXO1	HIST1H1E	IRF8	LRP1B	NOTCH2	PAX5	PCLO	PIM1	POU2F2	TNFAIP3
1	X				X							X			
2				X							X			X	
3		X		X											
4															
5					X	X	X								
6			X						X						
7											X				
8							X	X							
9				X						X	X				X
10								X							
11												X			X
12															
13				X			X					X	X		
14													X		
15	X					X				X					
16	X	X	X			X		X	X				X	X	
17			X												
18														X	
19			X						X	X					
20										X				X	
21		X				X			X						
22															

Existían 19 pacientes (86% de transformados) con al menos 1 gen mutado del listado de 14 genes que se han descrito como los más frecuentemente mutados en pacientes que sufren transformación histológica. Los pacientes identificados como 4, 12 y 22 no presentaban ningún gen de esos 14 alterado. No existe ninguna característica clínica distintiva en estos tres pacientes.

DISCUSIÓN



Como se ha comentado anteriormente el objetivo de nuestro trabajo es comparar las características de una serie diagnosticada de linfoma folicular a nivel nacional con los pacientes de dicha serie que a lo largo de la historia de su enfermedad presentan una transformación histológica. Posteriormente se ha analizado de forma detallada las características de los pacientes con la transformación y para concluir, centrándonos en el análisis molecular, se han comparado los resultados de pacientes con linfoma folicular sin transformación con los que sí la presentan.

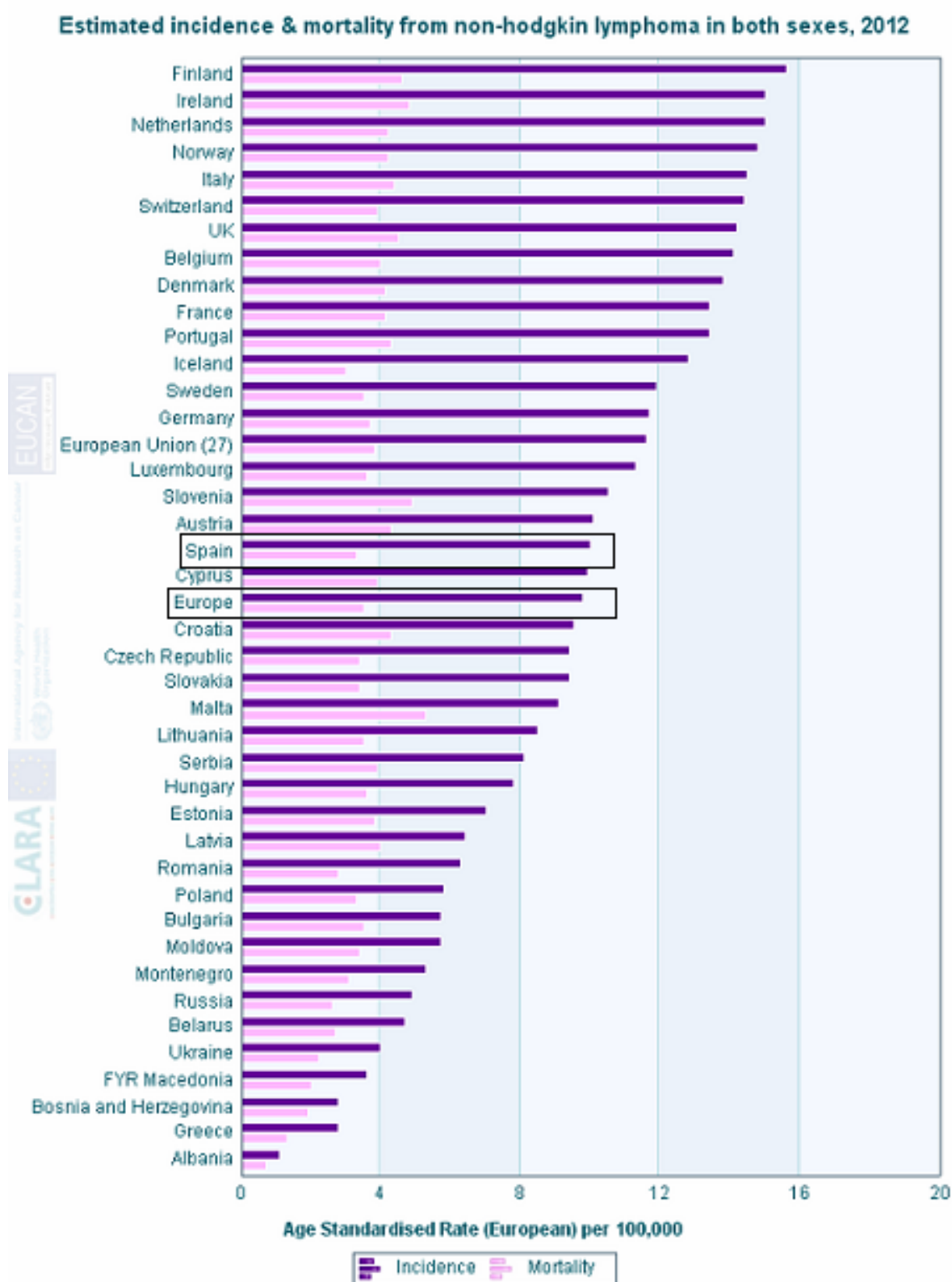
1. Validez de los datos

El linfoma folicular es el más frecuente de los linfomas no Hodgkin indolentes, ocurre en todas las razas y todas las localizaciones geográficas, pero la incidencia exacta a nivel mundial no es completamente conocida. Los datos epidemiológicos más concretos los tenemos de Estados Unidos o Europa a través de datos retrospectivos y series publicadas en los distintos países e instituciones.

Revisando los datos publicados por el National Cancer Institute en su base SEER (Surveillance, Epidemiology and End Result Program), se calcula que en el 2016 los linfomas no Hodgkin supondrán el 4.3% de todos los nuevos casos de cáncer (72.580 casos en EEUU). El porcentaje de supervivencia a 5 años (2006-2012) fue del 70,7%. En 2016 se calcula que las muertes por esta patología serán el 3.4% de las muertes por cáncer (20.150 casos).

En Europa, según los datos proporcionados por EUCAN para el 2012 para los linfomas no Hodgkin, la tasa de incidencia ajustada por la edad para 100000 habitantes fue del 9,8. Para España, fue del 10. La tasa de mortalidad estandarizada por cada 100.000 habitantes en Europa para los pacientes con esta patología fue del 3,5 y para España del 3,3. Con esto, podemos concluir que la incidencia en nuestro país es muy similar a la del resto de Europa con mortalidad levemente inferior a la del global de la Unión Europea.

Gráfico 4: Incidencia y mortalidad de linfoma no-Hodgkin en 2012



En España, existen pocas series que registren en detalle y por comunidades autónomas las tasas para el linfoma no Hodgkin. En el CI5 (Cancer Incidence in Five continents) se recogen los datos de los registros en 13 zonas de nuestro país (Albacete, Asturias, País Vasco, Canarias, Ciudad Real, Cuenca, Girona, Granada, La Rioja, Mallorca, Murcia, Navarra y Tarragona). Las incidencias más altas corresponden a Canarias (13,5 hombres y 9 mujeres/100.000 hab) y las más bajas a Ciudad Real (6,5 hombres y 4,6 mujeres/100.000 hab).

Todos estos datos son los correspondientes al linfoma no Hodgkin, no pudiendo precisar en concreto datos específicos del linfoma folicular. Lo que sabemos por series internacionales (Sant *et al*, 2010) y datos nacionales (Provencio *et al*, 2012) es que del 20-30 % de todos los LNH son linfomas foliculares.

Para los datos nacionales, como se ha dicho anteriormente, se registran datos de 13 zonas geográficas de nuestro país. Esto sería similar a nuestra serie, pero en nuestro caso, se han registrado datos de 23 hospitales distribuidos entre 9 comunidades autónomas (Madrid, Galicia, Canarias, Andalucía, Valencia, Cataluña, Castilla-La Mancha, Aragón y Murcia). Destacar que se cuenta con datos de las comunidades autónomas que concentran la mayor parte de la población de nuestro país.

Lo que se puede decir es que los datos de nuestra serie, al incluir pacientes de toda la geografía española, representan la realidad de lo que está ocurriendo con esta enfermedad en España. Por otro lado, sería similar en muchos aspectos a lo que está ocurriendo en Europa ya que los datos de nuestro país son parecidos a los publicados para Europa como se ha detallado anteriormente. Por eso se puede considerar que nuestros datos cuentan con suficiente validez y son representativos a nivel nacional.

2. Características de la serie general

Características clínicas

Se remitió a cada centro participante un formulario de cumplimentación donde se rellenaban los datos de cada caso de linfoma folicular. Las características clínicas se decidieron en base a la relevancia previa vista en distintas publicaciones sobre evolución y factores de riesgo del linfoma folicular. Posteriormente todos los formularios fueron incorporados a una base general de la que se han obtenido los resultados descritos previamente. Se ha centralizado la recopilación de datos en nuestro centro, así como el análisis posterior, disminuyendo la variabilidad que se podría tener al unificar tantos centros e investigadores.

En cuanto al primer factor analizado, la mediana de edad de nuestra serie es de 57,5 años. Por las series previamente publicadas se sabe que la incidencia de linfoma folicular aumenta con la edad y que es sobre todo una enfermedad frecuente en la edad media de la vida.

Para algunas de las series publicadas la mediana de edad suele estar en torno a los 60 años, siendo raros los casos en niños o adolescentes (Nabhan *et al*, 2014). En este sentido nuestros datos son muy similares a estos con mediana de edad en torno a la sexta década de la vida.

Con respecto al sexo, no parece existir predisposición de género a padecer la enfermedad. En la base de datos americana SEER, se recogen más de 18.000 pacientes con linfoma folicular y la distribución en cuanto a sexo fue del 50% de mujeres y 50% de hombres. Por el contrario, los datos de GLOBOCAN en España para 2012 registraron tasas ajustadas por edad de 9,1 casos/100.000 hombres/año y 5,9 casos/100.000 mujeres/año. La razón entre sexos fue del 1,2. Por lo tanto, no parece existir unanimidad en cuanto a que exista predisposición asociada a sexo. En nuestra serie se recoge un tanto por ciento levemente superior de mujeres (53%) pero sin diferencias importantes con los varones, lo que parece estar en consonancia con lo descrito en la literatura.

En cuanto al grado, los pacientes en nuestra serie están distribuidos de forma homogénea entre los grados 1, 2 y 3A (34%, 32% y 34%). Se han eliminado de este análisis los pacientes con grado 3B ya que por su comportamiento se clasifican más como un LBDCG. La presencia de grado 3A es levemente superior a lo esperado, en series previas suele encontrarse en torno a 25% (Federico *et al*, 2009).

También destacar que la mayoría de pacientes de nuestra serie presentan un origen nodal (84%) lo que está en consonancia con lo publicado, que registran un 10% de orígenes extranodales (Fernández de Larrea *et al*, 2011).

Con respecto al estadio, en muchas de las series reflejan que la mayoría de los pacientes son diagnosticados en estadios avanzados y solo en torno al 30% son diagnosticados en estadios I-II (Armitage *et al*, 1998). Nuestros datos son similares a esto ya que se cuenta con un 26% de pacientes diagnosticados en estadios I-II. La mayoría de los enfermos están en estadio IV (47%) y esto también es similar a lo descrito a nivel nacional (Provencio *et al*, 2015).

Se han recogido también los datos que conforman la escala FLIPI de riesgo como son edad mayor o menor de 60 años, más de 4 áreas ganglionares afectas, niveles elevados de LDH, estadios avanzados (III-IV) y niveles de hemoglobina de menos de 12 gr/dL. En cuanto a los valores analíticos está descrito que las citopenias (incluyendo descenso de hemoglobina) y el aumento de la LDH afecta a menos del 25% de los pacientes (Martin *et al*, 1995). En nuestra serie, el 24% de los pacientes presentan cifra de hemoglobina menor a 12 y el 25% cifra de LDH elevada. De nuevo nuestros datos son concordantes con lo descrito en series previas.

La escala pronóstica FLIPI fue validada en la publicación de Solal *et al* del 2004. Se recogieron los factores pronósticos que influían en la supervivencia de los pacientes con linfoma folicular. La serie estaba formada por 4.000 pacientes de centros de todo el mundo (España, Francia, Suiza, Italia, EEUU, China, Reino Unido) y estos se dividieron en 3 grupos: FLIPI bajo (0-1), intermedio (2) y alto (3-5). Un 36% de los pacientes de su serie presentaba un FLIPI bajo, un 37% un FLIPI intermedio y un 27% un FLIPI alto. En nuestra serie, un 43% presentan un FLIPI

bajo, un 31% un FLIPI intermedio y un 26% un FLIPI alto. Parece por tanto que la distribución de nuestros pacientes en la escala pronóstica es la esperada.

También en esta serie se registra el número de afectaciones nodales, siendo mayoritariamente inferior a 4 (65% de la población). En nuestra serie también la mayoría de enfermos tiene menos de 4 áreas ganglionares afectas (58%).

Siguiendo con los datos de esta publicación, también se recoge que el 88% de los pacientes presenta un ECOG 0-1. En nuestra serie, un 91% de los pacientes también presentan ECOG 0-1. Esto tiende a reflejar lo que se sabe de la enfermedad, con una tendencia a curso indolente y con muchos pacientes que presentan al diagnóstico buen estado general y como único síntoma la presencia de crecimiento de adenopatías.

En cuanto al valor al diagnóstico de beta2 microglobulina, este suele ser normal. En la serie de Solal *et al* de 2004, estaba aumentada en el 41% de los pacientes. En nuestros pacientes, el 36% presentaban beta2 microglobulina elevada.

En cuanto a la afectación médula ósea, se destaca como un parámetro importante a estudiar en el diagnóstico inicial de un linfoma folicular. Esto se debe a que suele estar afecta en la mayoría de pacientes con cifras que oscilan del 40-60%, con series que lo aumentan hasta el 70% (Perry *et al*, 2016). En nuestra serie la cifra es ligeramente inferior, con un 39% de pacientes con afectación de la médula ósea. Señalar que en la serie de Federico *et al* el 40% de los pacientes presentaba afectación también, un dato muy similar al nuestro.

Existe una triada típica descrita como síntomas B (fiebre, sudoración y pérdida de peso) que aunque es característica de las neoplasias linfáticas, en el caso del linfoma folicular solo está presente en el 20% de los pacientes (Martin *et al*, 1995 y Solal *et al*, 2004). En nuestra serie un 20% exacto de pacientes también lo presentan.

En cuanto a la presencia de masa bulky, esta no es una presentación habitual al diagnóstico. En la serie publicada por Federico *et al* un 25% de los pacientes tenían lesión mayor de 10 centímetros. En nuestra serie un 24% de los pacientes la presentaba.

Existen estudios que encuentran afectación extraganglionar en zonas como hígado hasta en el 50% de los pacientes con LF (Anderson T *et al*, 1982). En nuestra serie, hasta el 44% de los pacientes presentan afectación extraganglionares, volviendo a estar en consonancia con lo publicado.

En resumen, los datos clínicos recogidos en los pacientes de nuestra serie concuerdan con lo publicado en la literatura. Solo destacar que tenemos un leve aumento de pacientes con grado 3 sobre lo esperado.

Tratamiento

Como se ha comentado anteriormente la escala pronóstica FLIPI-2 fue desarrollada por el grupo italiano y publicada en 2009. En ella se recogen los datos prospectivos de una serie de más de 1.000 pacientes tratados en la era rituximab. En este artículo también se recogen los datos sobre el resto de tratamientos que habían recibido los pacientes. La tasa de trasplante descrita por ellos fue del 4% y en nuestra serie es del 5%. En cuanto a la radioterapia, fue del 22% en su serie, dato igual que el nuestro. La cirugía solo se lleva a cabo en un 3% de su serie y en 1% de la nuestra.

En lo referente al tratamiento de quimioterapia, tienen datos de más del 60% de pacientes tratados con combinaciones de rituximab, nosotros tenemos un 73% de pacientes. Esto apoya el hecho de que se presenta una serie que recoge la práctica clínica habitual en la era del rituximab.

En cuanto a la opción de esperar y ver, no existe consenso en las series sobre la cantidad de pacientes subsidiarios de esta opción terapéutica. Múltiples guías terapéuticas describen el “watch and wait” como opción para pacientes estadios II-IV asintomáticos, que no quieran terapias, sin enfermedad bulky, sin afectación de órganos, sin citopenias asociadas. Aunque se sigue considerando una opción ya que parece que retrasar las terapias no impacta en la supervivencia, existen dudas de que se pueda identificar correctamente a los pacientes que se beneficien de ella, ya que a día de hoy solo se cuenta con criterios clínicos para seleccionarlos (Armitage *et al*, 2016). Pese a ello, las series recogen tasas de 15-20% de pacientes en los que se decide esperar y ver (Ban Hoefen *et al*, 2013 y Conconi *et al*, 2012).

En nuestra serie contamos con una tasa claramente inferior, que se asemeja más a los datos publicados por Giné *et al* en 2006 de pacientes recogidos en el Hospital Clínic de Barcelona y que posteriormente sufrían una transformación histológica. En su serie la tasa de “watch and wait” fue del 6%, para nosotros del 2%. No se puede saber si esto podría ser una característica peculiar de nuestro país. Tampoco si los recientes resultados sobre el uso de rituximab en monoterapia en estos pacientes puede estar inclinando más a los clínicos a adoptar una actitud más agresiva de inicio (Ardeshtna *et al*, 2014).

Supervivencia

La supervivencia a 5 años para el linfoma folicular suele situarse en torno al 75%, variando clásicamente entre el 91% de los pacientes con FLIPI 0-1 y el 53% de los pacientes con FLIPI 3-5. Nuestro dato para supervivencia a 5 años en pacientes sin transformación es del 85% (IC 95% 82-87%), muy similar a lo publicado recientemente por otras series en la era rituximab. Para Wagner-Johnston *et al* en su serie del 2015, la supervivencia para los pacientes sin transformación histológica fue también del 85% (IC 95% 83-86%).

3. Factores predictivos de transformación histológica

Características clínicas

Como se ha comentado anteriormente, se ha seguido a la serie de pacientes con linfoma folicular y se ha registrado cuantos han sufrido una transformación histológica. Posteriormente se han analizado las características al diagnóstico de los 64 con TH y se han comparado con la serie general sin transformación.

Los criterios clínicos que muestran significación estadística para transformación histológica fueron el origen nodal ($p=0,04$), aumento de LDH ($p=0,02$), FLIPI alto ($p=0,01$), ECOG ≥ 1 ($p=0,01$) y presencia de síntomas B ($p=0,001$). El tener beta2 microglobulina elevada está próxima a alcanzar la significación ($p=0,06$).

La relación con alguno de estos criterios ya está descrita en la literatura previa, sobre todo la escala FLIPI que ha demostrado en muchos estudios (Giné *et al* 2006, Montoto *et al* 2007 y Sarkozy *et al* 2016) que presentar valores al diagnóstico de 2 o superior se asocia en mayor medida con transformación histológica. Este parece un dato constante en muchos estudios y refleja el peor pronóstico que tienen de base estos pacientes, ya que no deja de tratarse de una escala pronóstica que aúna distintas características clínicas importantes para la evolución del linfoma folicular.

En cuanto al aumento de LDH, ECOG ≥ 1 y presencia de síntomas B también han sido descritas como características que se relacionan con TH (Link *et al* 2013, Wagner-Johnston *et al* 2015, Sarkozy *et al* 2016).

Existen otros criterios que han sido estudiados pero que no muestran datos tan uniformes a lo largo del tiempo, como podría ser el presentar estadios avanzados al diagnóstico (Al-Tourah *et al*, 2008), afectación extranodal (Conconi *et al*, 2012), grado 3 (Giné *et al*, 2006) o aumento de beta2 microglobulina (Bastion *et al*, 1997). En nuestra serie también se ha analizado y no han alcanzado la significación estadística.

En cuanto a la afectación nodal, nuestros datos son contradictorios con otras series que lo ha analizado (Conconi *et al* 2012 y Wagner-Johnston *et al* 2015) ya que lo que parecía tener relación con la TH era la afectación extranodal. Cabe destacar que en muchas publicaciones previas no se recoge este dato y que contamos solo con un 6% de pacientes con afectación extranodal (4 pacientes) en la población con TH. Al ser tan pocos pacientes puede alterar el resultado y sobredimensionar la diferencia.

Lo que parece más importante es que los datos son concordantes con lo publicado sobre todo en cuanto a FLIPI, ECOG, LDH y síntomas B. Estos factores se repiten en las dos series más recientes publicadas, una de ellas con más de 2.652 pacientes analizados en EEUU (Wagner-Johnson *et al*, 2015) y la otra con 1.018 pacientes a nivel europeo (Sarkozy *et al*, 2016).

Posteriormente se ha realizado un análisis multivariante de las características clínicas y de nuevo la presencia de síntomas B y FLIPI moderado-alto se relacionaron con TH.

Tratamientos iniciales

En relación a los tratamientos que han recibido los pacientes, existe cierta controversia sobre la relación entre “esperar y ver” y la transformación histológica. Por un lado, algunas series más antiguas (Horning *et al*, 1984) no encontraban diferencias en la tasa de transformación entre pacientes que recibían tratamiento desde el inicio o aquellos en los que se decidía actitud expectante. Estos datos se confirmaron en un estudio randomizado posterior, aunque este estudio compara “esperar y ver” con un agente alquilante oral o interferón alfa-2b, que no sería el tratamiento actual más habitual (Brice *et al*, 1997). También en el estudio de Ardeshtna *et al* se aleatorizaban a los pacientes a “esperar y ver”, rituximab 4 semanas o rituximab 4 semanas con mantenimiento y no parecían existir diferencias entre las tasas de TH en los 3 brazos. Este estudio sería el que podría recoger la práctica clínica actual, pero el análisis de la tasa de transformación histológica no era un objetivo inicial por lo que se recogió en un análisis pos hoc, con los sesgos que esto puede conllevar. Además, la mediana de seguimiento no

supera los 4 años y sería necesario que fuese más larga para poder analizar datos de TH. También otro estudio reciente encaminado a analizar los resultados obtenidos en pacientes que inicialmente reciben tratamiento frente a los que se decide “esperar y ver” no encuentra diferencias en la tasa de transformación entre las dos opciones terapéuticas (Yuda *et al*, 2016). Cabe destacar que los propios autores en la discusión admiten que una importante limitación de su estudio es que no tienen suficientes eventos para analizar las tasas de transformación, que presentan un seguimiento muy corto de la serie analizada y que pueden presentar sesgos al tratarse de un estudio retrospectivo.

Por el contrario, existen estudios recientes, con un importante tamaño muestral y seguimiento prolongado (Montoto *et al*, 2007, Link *et al* 2013 y Wagner-Johnston *et al* 2015) que relacionan “esperar y ver” con aumento de riesgo de transformación. Nuestros datos son similares a estas publicaciones, por lo que pese a los datos contradictorios, podemos decir que “esperar y ver” parece relacionarse con un aumento de riesgo de transformación histológica.

En cuanto a otros tratamientos, en nuestra serie también existe un porcentaje menor de pacientes que han recibido antraciclinas y rituximab en la población con transformación y las diferencias con la serie que no sufre TH alcanzan la significación estadística. La relación entre los tratamientos de inmunoterapia previos y la transformación es un tema controvertido porque mientras que existen estudios que encuentran disminución en la tasa de transformación en los pacientes que han recibido antraciclinas y rituximab (Al-Tourah *et al*, 2006), existen otras series que no encuentran diferencia, sobre todo, en lo referente a las antraciclinas (Wagner-Johnston *et al*, 2015 y Giné *et al* 2006).

En nuestra serie con LF sin transformación existe un 76% de pacientes que han recibido rituximab al inicio de la enfermedad frente a un 61% en los pacientes que sufren transformación histológica. Parece lógico que el uso del rituximab al inicio de la enfermedad pueda estar influyendo en la tasa de transformación ya que como se detallará a continuación las tasas de TH en la era rituximab han disminuido frente a lo publicado antes del uso de este fármaco.

4. Tasas de transformación

Las tasas de transformación a 10 años, como se ha descrito anteriormente, varían en la literatura desde un 20% (Al-Tourah *et al* 2008 y Bastion *et al* 1997) hasta un 70% (Garvin *et al*, 1983). Estas diferencias están influenciadas por las diferencias metodológicas de los estudios, tamaños muestrales, distintos tratamientos administrados por las diferencias temporales de las investigaciones.

Lo que parece que ha variado a lo largo de los años es que la tasa de transformación histológica es menor en las últimas décadas. Cada vez cobra más fuerza la teoría de que la incorporación de inmunoterapia en el manejo inicial de los pacientes ha disminuido la tasa de TH. Algunos de los primeros datos en este sentido fueron presentados en 2012 en el congreso de la American Society of Clinical Oncology (ASCO) por Al-Tourah *et al*. Registraron una serie de pacientes de la British Columbia con diagnóstico histológico confirmado de TH (80%) o clínicamente sospechosos (20%) que habían aparecido tras tratar a 261 pacientes con LF con inmuno-quimioterapia. El riesgo de transformación fue del 10% a 5 años, que bajaba al 8% si los pacientes habían recibido rituximab de mantenimiento. Este estudio ya sugería que la introducción de inmuno-quimioterapia reducía el riesgo de transformación por debajo del 10% y este efecto era particularmente llamativo para pacientes que habían recibido mantenimiento con rituximab (Al-Tourah *et al*, 2012).

Posteriormente han aparecido 3 estudios de TH en la era de la inmuno-quimioterapia (Conconi, Link y Wagner-Johnson *et al*), en los que la tasa de transformación roza el 10%. En todos ellos sus autores insisten en que las nuevas terapias pueden estar modificando las tasas de TH. Nosotros tenemos registrada incidencia acumulada de transformación a 5 años del 7,3%, con las tasas anteriormente citadas de 2,11 cada 100 personas/mes el primer año, 1,43 cada 100 personas/mes el tercer año y 0,8 cada 100 personas/mes a 10 años.

Pueden existir distintas razones por las que la incidencia de nuestra serie es ligeramente menor a otras; una de ellas puede ser que las nuevas técnicas de diagnóstico nos permiten identificar más pacientes que al inicio presentan componente de LF y LBDCG, reduciendo así el caracterizarlos como transformación a lo largo de la historia de la enfermedad. Además la fracción de

transformación confirmada histológicamente en nuestra serie (45%) es más alta que en otras series previas que también incluyen pacientes con transformación solo en base a criterios clínicos. Aunque los criterios clínicos están bien establecidos, el utilizar sobre todo la sospecha clínica sin confirmación anatomopatológica puede conducir a la sobreestimación de la tasa de TH. Por otro lado hay que destacar que en este estudio participan distintos centros de toda España y que se puede tener pérdida de seguimiento de pacientes, con la consecuente infraestimación de tasas de transformación anual. De todas formas se debe tener en cuenta que la tasa de transformación ha disminuido claramente en la era rituximab. Recientemente en pacientes tratados únicamente con R-CHOP (Sarkozy *et al*, 2016) se ha descrito tasa de incidencia acumulada para TH del 4,1% tras 6 años del tratamiento.

Destacar que nuestra serie presenta una alta tasa de transformación sobre todo en el primer año, que va disminuyendo a los largo de los años hasta alcanzar un plateau. Como se ha comentado, el 30% de los pacientes se transformaba el primer año de seguimiento, sin registrarse transformaciones más allá de los 14 años. En distintas series previas se recogen tasas de transformación más estables en el tiempo, pero datos recientes publicados contradicen este hecho al presentar la mitad de los casos de TH en el primer año de seguimiento, asemejándose más a nuestros resultados (Sarkozy *et al*, 2016). Lo peculiar de esta serie es que todos los pacientes están tratados con inmuoquimioterapia, lo que podría explicar mejor la evolución de la transformación en la era rituximab.

En cuanto a si los pacientes presentan un riesgo continuo de transformación o llega un punto en que ya no se registran más TH existen datos contradictorios. Mientras que para algunos autores la tasa de TH parece continua (Al-Tourah *et al*, 2008) muchos otros han encontrado datos similares a nosotros. En nuestra serie, tras pasar los 6 años de seguimiento la tasa de transformación va disminuyendo alcanzando un plateau y más allá de los 14 años no parece transformarse ningún paciente. Esta experiencia es muy similar a la recogida por Montoto *et al*, Conconi *et al* o Link *et al* y en paralelo a la teoría de que los linfomas foliculares que no han sufrido transformación tras 15 años de diagnóstico no lo sufrirán. Esto va en

consonancia con los estudios moleculares que han encontrado distintos subtipos de LF con distintas vías oncogénicas que llevan a la TH (Carlotti *et al*, 2009).

De forma relacionada, la mediana desde el diagnóstico del LF a la de la TH es de 24 meses en nuestra serie y está en consonancia con todo lo anteriormente mencionado.

En resumen, la tasa de TH es ligeramente inferior a otros datos previos publicados pero se puede considerar que además de las limitaciones metodológicas que pueden causarlo, en las series de la era rituximab se está describiendo esta tendencia. Esto se puede deber a que la terapia con rituximab parece alterar la biología de la TH a través de la estabilización genética, promoviendo que las células tumorales no adquieran mutaciones oncogénicas, modificando el microambiente o cambiando la regulación de genes relacionados con la inmunidad.

También el aumento de TH en los primeros años tras el diagnóstico y el plateau que se alcanza posteriormente es un evento previamente descrito y que puede reflejar las características moleculares de esta enfermedad.

5. Supervivencias de ambas series

Como se ha comentado, la supervivencia para la serie sin transformación a 5 años es del 85%, mientras que en la serie con transformación disminuye al 66%. Esta diferencia de supervivencia alcanza la significación. En otras series recientes (Wagner-Johnson *et al*, 2015) las diferencias son muy similares con supervivencias a 5 años del 85% versus el 75%. También se ha analizado la supervivencia tras la TH y se ha podido observar que tras este evento la supervivencia se iguala a lo esperado para un LBDCG, ya que a 5 años un 55% de los pacientes están vivos (concordante también con lo publicado en la era rituximab por Sarkozy *et al* 2016, Wagner-Johnson *et al* 2015, Link *et al* 2013 y Ban-Hoefen *et al* 2013). Analizando las curvas se puede ver que en los primeros 2 años fallecen un 33% de los pacientes. Si se analizan las curvas clásicas que describen la supervivencia para LBDCG se observa que más de un 20% de los pacientes fallecen también en esos primeros 2 años.

Estos datos reflejan la naturaleza del linfoma tras una transformación, por un lado la agresividad de la enfermedad y el empeoramiento claro del pronóstico de los enfermos y por otro, la similitud con el LBDCG. Ambos hechos son repetidos en la literatura por diversos autores y se ven de forma clara en nuestros datos.

6. Características de la serie con transformación

Antecedentes de interés

Se han recogido de forma detallada antecedentes que han demostrado en algún estudio previo relación con la aparición de linfomas no Hodgkin, pero centrándose sobre todo en los que se habían registrado como factores relacionados con el linfoma folicular.

El primer factor estudiado fue el tabaco ya que, aunque existen datos contradictorios con su relación con el LF, en un meta-análisis del InterLymph (Morton *et al*, 2005) y un estudio de casos y controles masivo (Freedman *et al*, 1998) parecía existir relación incluso dosis-efecto. Siguiendo con los factores tóxicos, existen series que describen el efecto protector del alcohol para aparición de LF postulando un efecto modulador sobre sistema inmune (Kroll *et al*, 2012). Para finalizar, no aparece reflejado en ningún estudio de forma clara la relación entre el consumo de drogas y la incidencia del LF, pero parecía un punto interesante a desarrollar. Por todo ello, se ha recogido la prevalencia del consumo de tabaco, alcohol y drogas. Al no tratarse de una serie de casos-contróles se puede hacer una comparación indirecta sobre la prevalencia en la población general. Para ello se han obtenido los datos de la estadística del 2015 del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad sobre consumo de alcohol, tabaco y drogas en España (www.pnsd.msssi.gob.es/profesionales/sistemasInformacion/informesEstadisticas). En este informe se recoge la prevalencia de consumo diario de sustancias en la población de 15-64 años en nuestro país. Los datos más recientes son del 2013 y en ese año, el consumo de tabaco era del 30,8% de la población, el de alcohol del 10,2% y de drogas del 1,9%. En nuestra serie el consumo de tabaco fue del 23%, de alcohol del 3% y de drogas del 1,5%. Como se ha dicho anteriormente, no podemos sacar muchas conclusiones de esta comparación indirecta, solo que nuestros datos

son muy similares a la población general española. También se puede comparar nuestros datos con los recientemente publicados en la actualización del InterLymph (Linnet *et al*, 2014). Este estudio registra datos de 19 estudios casos-control de Europa, América del Norte y Australia sobre historia médica y familiar, ocupación y hábitos de vida. Para ellos, el consumo de tabaco no parecía relacionarse con el desarrollo de un linfoma folicular. El tanto por ciento de consumo de tabaco para pacientes con linfoma fue del 22.5%, muy similar al recogido en nuestra serie. En cuanto al alcohol es más difícil de interpretar porque para ellos sí que tiene efecto protector pero solo en mujeres, no recogándose datos para el consumo de drogas. Por tanto, en cuanto a factores tóxicos (tabaco, alcohol y drogas) tenemos datos similares a la población general y a otras series que no han encontrado relación entre estos factores y la aparición de LF.

También se ha estudiado la exposición ocupacional comenzando con pesticidas ya que se ha llegado a asociar con un triple riesgo de LNH y especialmente LF (Fritschi *et al*, 2005). En nuestra muestra ningún paciente parecía haber estado expuesto a este tipo de sustancias. Siguiendo con los agentes exposicionales, el benceno se emplea para la fabricación de plásticos, resinas, gomas y pinturas. Es una causa conocida de leucemia y se han publicado varias revisiones para evaluar la evidencia de su relación con los linfomas. Aunque algunas series no encuentran ninguna relación, otras parecen relacionar la exposición al benceno con la aparición de LF (Cocco *et al*, 2010). En los datos del InterLymph (Linnet *et al*, 2014) se recoge una exposición a pintura en el 1% de los casos de linfoma analizados (siendo estadísticamente significativa además esta exposición, con OR de 2,66). En nuestra serie un 1,5% de los pacientes presentaban una exposición a pinturas, lo que está en consonancia con sus resultados. También como agente exposicional, existen datos contradictorios entre el asbesto y el riesgo de desarrollar algún subtipo de linfoma. En nuestra serie un 1,5% de los pacientes presentaban exposición al asbesto. En una publicación del 2010, se recogían datos de una serie de pacientes con linfoma de Italia y Alemania y se comparaba con los datos de una serie control en cuanto a exposición al asbesto. Se encontró un 1,2% de exposición al asbesto entre el grupo con linfoma y un 1% en la serie control, sin que se alcanzase una asociación estadística (Seider *et al*, 2010). De nuevo los datos en

cuanto a la exposición a dicha sustancia son similares a los nuestros. En resumen, nuestros datos de exposición ocupacional son similares a otras series.

Sobre los desórdenes del sistema inmune, existen trabajos que no encuentran relación entre el trasplante de órganos sólidos y el linfoma folicular (Vajdik *et al*, 2010) ni relación entre enfermedades autoinmunes y el desarrollo de linfoma folicular (Anderson L *et al*, 2009). En nuestra serie no existía ningún paciente con enfermedad autoinmune ni que hubiese recibido ningún trasplante previo al diagnóstico de LF.

En cuanto a infecciones virales, se cree que estas pueden producir LNH por tres vías distintas: mediante la transformación directa de los linfocitos, mediante el debilitamiento del sistema inmune o mediante la estimulación crónica del sistema inmune. Por eso se ha analizado la incidencia de presencia de VIH, VHB o VHC en nuestra serie. Con respecto al VIH, se sabe que el virus de la inmunodeficiencia humana está relacionado con el LB y LBDCG, además, se cree que puede estar relacionado con los linfomas B de bajo grado (Dal Maso *et al*, 2003). Lo que se ha estudiado con detalle es si la incidencia creciente de los linfomas no Hodgkin podía estar en relación con la infección por VIH, encontrándose en EEUU que la tasa de incidencia de NHL ha alcanzado un *pateau*, independientemente del VIH. En este estudio, de los casos diagnosticados entre 1992 a 2009 un 5,9% tenían infección por VIH. En concreto, un 1% de los linfomas foliculares presentaba infección por VIH (Shiels *et al*, 2013). En nuestra serie, un 1,5% de los pacientes lo tenían, presentando de nuevo datos muy similares a lo esperado. En cuanto a la infección por VHB o VHC, también existen distintas publicaciones que encuentran relación entre estas dos infecciones y la aparición de distintos subtipos de linfomas (Taborelli *et al*, 2016), así como la posible evolución distinta de los pacientes infectados con diagnóstico de linfoma (Rubio *et al*, 2015). En el estudio de Taborelli *et al*, entre los pacientes con LF, un 1% de los pacientes presentaba infección por VHC y un 4% infección por VHB. En nuestra serie los datos son ligeramente superiores pero muy similares a estos, con tasas del 5% de VHB y 3% de VHC.

El estudio de cánceres primarios es útil para sugerir factores ambientales y genéticos que pueden relacionarse a su vez con la aparición de distintos tipos de linfomas. Se han registrado sobre todo asociaciones entre los distintos tumores cutáneos tanto melanoma (Bradford *et al*, 2010) como no melanoma (Levi *et al*, 2008). En una serie de más de 52.000 pacientes con LNH se estudió la asociación de distintos factores con la aparición de dicha enfermedad. Pocos factores demostraron asociación con los 5 subtipos de linfoma estudiados (leucemia linfática crónica, LBDCG, LF, linfoma de la zona marginal y linfoma T), pero tanto el cáncer de piel no melanoma como la keratosis actínica parecían relacionarse. Se cree que estas alteraciones cutáneas pueden expresar cierto grado de inmunosupresión en el paciente y este hecho es el que puede estar relacionado con la aparición de un LNH (Engels *et al*, 2016). No existe mucha más literatura sobre asociación de distintos tumores y aparición de linfomas. Lo que se puede hacer es analizar la incidencia de los tumores más frecuentes y lo que se ha visto en nuestra serie. En nuestros datos el tumor más frecuente es el de mama (6%), seguido por colon (3%), próstata (1,5%) y carcinoma de piel no melanoma (1,5%). Para GLOBOCAN 2012 el orden de incidencia de tumores en nuestro país sería en primer lugar para el carcinoma de colon (15%), seguido de próstata (12,9%), pulmón (12,4%), mama (11,7%) y vejiga (6,4%). Destacar que la incidencia de tumores registrada en nuestra serie es más baja que la esperada para la población general y que no tenemos casos de tumores frecuentes como serían pulmón o vejiga. Este hecho se puede deber a que los pacientes con estas dos patologías no presentan supervivencias muy altas y por eso no desarrollan posteriormente un linfoma folicular.

Características clínicas al inicio y tras la transformación histológica

Clásicamente se describen unas características clínicas que pueden hacer<>p sospechar que un paciente está sufriendo una transformación histológica. Estas son aumento de LDH, crecimiento ganglionar rápido, empeoramiento del estado general, aparición de síntomas B, hipercalcemia o afectación de nuevas zonas

ganglionares o extraganglionares. Estas características fueron descritas por Bastion *et al* en 1997 y posteriormente por Al-Tourah *et al* en 2008.

Existen pocas series recientes que describan las características de sus pacientes tras ser diagnosticados de una transformación histológica. Dos serían las principales, una la de Giné *et al* del 2006 que resume las características de 30 pacientes transformados y la otra sería la de Montoto *et al* del 2007 con 88 pacientes transformados.

Analizando nuestros datos en el momento de la transformación, son muy similares a las series de Giné *et al* y Montoto *et al*. En ambas publicaciones se describe que la mayoría de los pacientes están en estadios avanzados (Giné 40% de estadios IV y Montoto 80% de estadios III y IV), al igual que en nuestros pacientes que presentan un 41% estadio IV y un 80% estadios III y IV. En cuanto a hemoglobina menor de 12 gr/dL, solo Montoto *et al* lo describen, encontrando un 58% con cifras inferiores a 12 gr/dL; en nuestra serie contamos con un 41%. En cuanto a aumento de LDH, Giné *et al* recogen que un 81% de los pacientes lo presentan y Montoto *et al* un 67%; en nuestra serie un 73% de los pacientes lo tienen. En cuanto al ECOG ≥ 2 , en la serie de Giné lo tienen un 44% de los pacientes y en la de Montoto un 35%, nuestros datos son los más bajos ya que en nuestros pacientes un 25% lo presentan. Por el contrario, en cuanto a síntomas B, Giné *et al* los describen en un 33% de los pacientes y nosotros los encontramos en un mayor número de enfermos, un 66%. En cuanto a beta2 microglobulina en la serie de Giné *et al* un 46% de los enfermos la tiene elevada, en nuestra serie un 45%. En cuanto a masa bulky, Giné *et al* la describen en un 22% de los enfermos y nosotros en un 30%. Para finalizar, en cuanto a la afectación visceral, Montoto *et al* la encuentran en un 20% frente a Giné *et al* que lo hacen en un 44%; nuestros datos son más similares a los primeros, con un 25% de pacientes con afectación visceral. En resumen, se tienen cifras similares a otras series en cuanto a estadios avanzados, descenso de hemoglobina, aumento de LDH, beta2 microglobulina o masa bulky. Se tienen datos inferiores en cuanto a ECOG de ≥ 2 y datos superiores en cuanto a presencia de síntomas B. Existe discrepancia en cuanto a la afectación visceral, con datos similares a la serie de Montoto *et al*.

Además, se han estudiado las características clínicas o analíticas que habían empeorado respecto al diagnóstico de LF. Aunque al inicio parecía que todas las características recogidas lo hacían, solo alcanzaban la significación el empeoramiento del ECOG ($p=0,0001$), la aparición de síntomas B ($p=0,0004$), el aumento de LDH ($p=0,0001$) y de beta2 microglobulina ($p=0,0002$). Este punto no ha sido realizado por ninguna serie anteriormente. Tres de estos cuatro factores son los que se han descrito clásicamente para el diagnóstico clínico de una TH.

También se han analizado los motivos por los que los pacientes han sido diagnosticados de una TH. La mayoría de los enfermos acudieron a consulta con aparición de síntomas nuevos, sobre todo con crecimiento ganglionar o deterioro del estado general. Este hecho indica que en los pacientes con un LF que presentan un crecimiento ganglionar llamativo o deterioro del estado general debe de sospecharse una TH. Sería importante en ese momento una anamnesis detallada haciendo hincapié en la aparición de síntomas B, además de realización de analítica con LDH o beta2 microglobulina ya que serían factores que podrían ayudarnos a diagnosticar este cambio histológico. Posteriormente, ya se llevarían a cabo las pruebas de imagen o laboratorio necesarias, pero inicialmente existen datos que pueden orientar al diagnóstico y que se ha demostrado que aparecen antes de cualquier diagnóstico anatomopatológico.

Tratamientos de la serie con transformación histológica

Centrándose en los tratamientos administrados a los 64 pacientes con transformación, el 100% de ellos reciben a lo largo de la historia de su enfermedad tratamiento de quimioterapia. También 60 de ellos (94%) reciben tratamiento con rituximab, ya sea como parte de un esquema de inmunoquimioterapia (con rituximab de mantenimiento posterior o no) o en monoterapia. Este último dato parece interesante ya que se puede analizar el efecto del rituximab en nuestra serie debido a que la mayoría de los pacientes lo han recibido.

También se tiene un 24% de los todos los pacientes en los que de entrada se ha decidido observación. Este subgrupo también ofrece la posibilidad de analizar el

efecto de los distintos fármacos en pacientes naïve de tratamiento y que presentan una TH.

En cuanto a la radioterapia y los radioinmunoconjugados, los subgrupos de pacientes en los que se deciden estos tratamientos es muy pequeño y las conclusiones que se pueden obtener son más limitadas.

Para finalizar, tenemos 22 pacientes (34%) en los que se ha decidido llevar a cabo un trasplante, en 21 de ellos un trasplante autólogo. Aunque no son muchos pacientes, la existencia de este subgrupo también puede ayudar a analizar si este tratamiento tiene impacto en la supervivencia de los pacientes ya que este punto es objeto de controversia hoy en día.

Tratamiento con quimioterapia o no

Para empezar a analizar la influencia en la supervivencia de los pacientes en base a los tratamientos recibidos se ha comparado el grupo de pacientes en los que se iniciaba tratamiento con quimioterapia frente a los que no la recibían antes de la transformación histológica (los pacientes quimio-naïve). Este último grupo estaba compuesto por 15 pacientes en los que se había decidido “esperar y ver”, 2 pacientes tratados inicialmente con radioterapia y 2 pacientes tratados únicamente con rituximab en monoterapia. Las supervivencias a 5 años fueron del 55% frente al 81% ($p=0,009$). La teoría de que los pacientes quimio-naïve pueden tener supervivencias mayores tras una transformación histológica estaba previamente estudiada en 2 publicaciones (Ban-Hoefen *et al* 2013 y Tan *et al* 2013), aunque en las series más largas posteriores de pacientes transformados este hecho no ha sido estudiado específicamente. Sí que sabemos que las respuestas iniciales a los tratamientos (sensibilidad del tumor), así como qué es lo que se administra a los pacientes antes de una TH pueden influir en la supervivencia de éstos y en la propia TH. Esto puede deberse a que algunos eventos moleculares asociados a la transformación (como p53) están también asociados a la quimio-resistencia.

“Esperar y ver” frente a otros tratamientos

Posteriormente se ha comparado la supervivencia de los pacientes que se había decidido únicamente “esperar y ver” frente a la de los 49 pacientes que se les había administrado algún tratamiento desde el principio (2 radioterapia, 2 rituximab en monoterapia y 45 quimioterapia). Destacar que cuando se hacen las curvas de supervivencia de ambas series, parece que el grupo de pacientes en los que se decide esperar y ver presentan supervivencias más prolongadas (SPV a 5 años de 67% vs 59%, sin alcanzar la significación), que iría en consonancia con lo anteriormente analizado. Como se ha comentado, las diferencias no alcanzan la significación pero puede deberse a que en un grupo solo había 15 pacientes.

La cuestión posterior a aclarar es si las dos poblaciones (“esperar y ver” y tratamiento inicial) tenían diferentes en criterios clínicos que podrían suponer por sí mismos diferencias en la supervivencia. Para ello, se han analizado características como edad, estadio inicial, valores analíticos (hemoglobina, LDH, beta2 microglobulina), ECOG, síntomas B, presencia de masa bulky, afectación visceral o afectación de médula ósea. Todos los valores se acompañan de su Odds Ratio y se ha analizado su significación estadística. Solo la edad y ECOG (0 o 1) se relacionaron estadísticamente con estar en un grupo u otro, la hemoglobina (mayor o menor de 12) y la presencia de masa bulky están próximas a alcanzar la significación. Tanto edad como hemoglobina forman parte de los 5 valores de la escala FLIPI que se relacionan con el pronóstico de los enfermos, quizás por tanto, existen factores que en sí mismos hacen que el grupo “esperar y ver” tenga supervivencia mejor.

Por un lado, parece lógico que en los pacientes de edades mayores a 60 años estén más en el grupo “esperar y ver” porque, como se describe en múltiples guías terapéuticas como la guía de la Sociedad Española de Oncología Médica del 2015 (Provencio *et al*, 2015): *“la mediana de edad de pacientes con LF son 60-65 años y las regresiones espontáneas suceden en 10-20% de los enfermos, así los pacientes asintomáticos pueden ser manejados con la estrategia “esperar y ver” ”*. Por otro lado, también parece sensato en la práctica clínica habitual que si el paciente presenta anemia, masa bulky o empeoramiento clínico en relación con la enfermedad se plantee opción de tratamiento activo. Estos criterios también están

recogidos dentro de los criterios GELF (Groupe pour l'Etude de Lymphome Folliculaire) para inclinarnos a la hora de iniciar un tratamiento activo.

En resumen, parece que los pacientes que sufren TH y no habían recibido previamente tratamiento presentan supervivencias mejores que los que habían estado expuestos a medicaciones para el LF. De todas formas estos pacientes presentan criterios clínicos favorables sobre los pacientes que habían recibido tratamiento, por lo que no se puede sacar conclusiones en firme, pero podría ser una línea interesante de investigación.

Trasplante autólogo

Los estudios clásicos que han podido validar el papel del trasplante en LF y LBDCG en recaída suelen excluir los pacientes con TH por eso, toda la información que se tiene de esta modalidad de tratamiento está basada en pequeñas series. Aun así, el papel del trasplante en los pacientes con TH tiene mucho interés debido a que históricamente era considerado uno de los pilares del tratamiento debido al mal pronóstico que presentaban estos enfermos. El problema es que en la era rituximab queda por dilucidar la necesidad de consolidar los tratamientos de quimio-inmunoterapia con un trasplante posterior. Como se ha comentado anteriormente existen estudios que igualan las supervivencias globales obtenidas con el trasplante autólogo a las que se obtienen en los pacientes con pautas de inmuno-quimioterapia (Madsen *et al*, 2013).

En nuestra serie un 30% de los pacientes en el momento de la TH reciben trasplante como parte de su tratamiento. Estos datos son muy similares a la serie de Sarkozy *et al* en la que la tasa de pacientes sometidos a trasplante tras una TH es del 40%. Quizás el hecho de que en dicha serie la tasa sea levemente superior a la nuestra es que en este estudio todos los pacientes ya habían recibido previamente R-CHOP (pacientes del estudio PRIMA), mientras que en nuestra serie tenemos pacientes que se había decidido “esperar y ver” y que en el momento de la transformación recibieron inmuno-quimioterapia y nunca han recibido un trasplante autólogo.

Según nuestros resultados los pacientes que a lo largo de su evolución reciben trasplante presentan supervivencias más prolongadas que los que no lo reciben,

muy próximo a alcanzar la significación estadística (SPV a 5 años de 78% versus 54%, $p=0,06$). Si separamos del análisis a los 2 pacientes que habían recibido el trasplante antes de la TH, los resultados obtenidos eran muy similares, con supervivencia en torno al 80% y rozando la significación estadística.

El problema de nuestra serie es que no es un estudio prospectivo sobre los distintos tratamientos posibles, y cuenta con las limitaciones de los estudios retrospectivos. Por tanto, no se pueden sacar conclusiones en firme sobre el beneficio del tratamiento del trasplante autólogo. Lo que se puede es comparar nuestras supervivencias con series similares y ver si los datos son concordantes con lo publicado hasta ahora. En ese sentido, el estudio de Ban-Hoefen *et al* del 2012 registra supervivencias a 2 años del 74% para el trasplante autólogo y del 59% sin trasplante. En nuestro caso, a 2 años, las supervivencias de nuestra serie son del 81% versus el 54%. Otra de las series prospectivas con más pacientes que estudian el papel del trasplante autólogo en pacientes con TH sería la de Villa *et al* de 2013. En esta, la supervivencia a 2 años para los pacientes que reciben trasplante sería del 83%. De forma paralela, en la serie de Reddy *et al* del 2012 (pacientes con TH en el primer año tras el diagnóstico del LF) la SPV a 5 años para los pacientes con trasplante autólogo fue del 80%. Por tanto parece que nuestros resultados son muy similares a otras series que generan la hipótesis del posible beneficio del trasplante autólogo en pacientes tras TH.

Con todo esto se puede concluir que plantear el tratamiento con trasplante autólogo en pacientes seleccionados con TH en algún momento de la evolución de la enfermedad parece beneficiarles en datos de supervivencia. Como se ha dicho anteriormente, no existen estudios clínicos aleatorizados que comparen el tratamiento de trasplante con el de inmuno-quimioterapia por tanto, al igual que en otros estudios, solo se puede hacer una descripción de los resultados.

También existe cierta controversia sobre el papel del rituximab previo al trasplante. Mientras que para los LBDCG en el estudio CORAL (Collaborative Trial in Relapsed Aggressive Lymphoma) la exposición previa al rituximab daba a los pacientes una peor supervivencia (Gisselbrecht *et al*, 2010), esto no ha podido ser demostrado en los linfomas transformados. En nuestra serie 18 de los 19 pacientes

que han recibido trasplante autólogo han recibido rituximab previamente por lo que no se puede hacer una comparación directa entre dos poblaciones (con y sin rituximab). Igual que en el estudio de Ban-Hoefen *et al* 2012 solo se puede hacer una comparación indirecta y destacar que en la era pre-rituximab las supervivencias de las series de trasplante variaban entre un 40% o 74% (Foran *et al* 1998, Friedberg *et al* 1999, Chen *et al* 2001, Williams *et al* 2001, Andreadis *et al* 2001, Eide *et al* 2011). Por tanto parece que el beneficio en la supervivencia que puede aportar para un subgrupo de pacientes seleccionados el trasplante, no se ve modificado por el hecho de haber recibido previamente rituximab. En el caso de pacientes rituximab naïve, el beneficio del trasplante es más dudoso.

Con respecto al papel del trasplante alogénico, en nuestra serie solo existe un paciente con TH que se hubiese sometido a esa terapia por lo que no lo hemos incluido en estos análisis.

Radioterapia

El papel de la radioterapia en la TH está sobre todo estudiado en pacientes con enfermedad limitada, como consolidación de otros tratamientos. Solo se tienen 14 pacientes que han recibido esta terapia y específicamente tras la transformación 7 de ellos. No parece que recibir este tratamiento a lo largo de la evolución de la enfermedad tenga impacto en la supervivencia de los pacientes frente a no realizarlo. Tampoco influye si lo han recibido antes o después de la transformación.

Hasta ahora, como se ha comentado, el papel de la radioterapia en la TH es de apoyo a otros tratamientos o para tratar zonas limitadas que progresan de forma independiente al resto de la enfermedad.

Radioinmunoconjugados

Existen numerosos estudios como ya se ha comentado sobre el papel emergente de los RIC como tratamiento en los pacientes con TH. El problema es que en nuestra serie solo se tiene 1 paciente tratado tras la transformación. Este paciente sigue vivo y sin evidencia de enfermedad, aunque no se pueden extraer conclusiones al tratarse de un caso único. De los 2 casos que lo han recibido antes, la transformación sucedió a los 2 y 3 años tras esta terapia.

Rituximab

En los últimos años se ha estudiado la influencia del rituximab tanto en las tasas de TH como el papel que podría estar jugando este fármaco en la supervivencia de los enfermos. Como se ha expuesto anteriormente, la tasa de TH en la era rituximab ha disminuido y la supervivencia de los pacientes ha aumentado. Por lo tanto, el rituximab ha cambiado hasta cierto punto la historia natural de esta enfermedad. Por eso se ha investigado la influencia del tratamiento con rituximab en nuestros pacientes, tanto en relación con su supervivencia como si recibirlo antes o después de la transformación podría alterar el pronóstico de los enfermos.

Para empezar, se ha descrito la supervivencia de los 4 pacientes que nunca han recibido tratamiento con rituximab en nuestra serie frente a los 60 pacientes que sí lo han recibido (94% de los pacientes). Al tener solo 4 pacientes sin el tratamiento los datos no pueden ser comparados directamente; se puede observar que los límites del IC de la supervivencia van del 5% al 84%. Solo se puede concluir que la supervivencia a 5 años en los pacientes que han recibido rituximab como parte de su tratamiento en la práctica clínica habitual es del 64%.

Posteriormente se han analizado las diferencias en la SG de los enfermos según hubiesen recibido rituximab antes o después de la TH. Se han hecho dos análisis: pacientes tratados con inmuoquimioterapia (R-CHOP, R-CVP, R-Bendamustina) antes de la transformación versus pacientes tratados solo tras la transformación y pacientes que han recibido rituximab antes (en combinación con quimioterapia o en monoterapia) frente a pacientes tratados con rituximab solo después de la TH.

En ambos casos la supervivencia cuando se administra el fármaco antes de la TH es del 55-58% mientras que si se administra después es del 75%. En las curvas de supervivencia también se observa esta tendencia y para el global de pacientes con rituximab, los datos están próximos a alcanzar la significación estadística. En la literatura existen 3 estudios que han analizado también la influencia del rituximab en la supervivencia cuando se recibe antes o después de la TH. Las series de Al-Tourah *et al* del 2007, Link *et al* del 2013 y Ban-Hoefen *et al* del 2013 recogen datos de supervivencia en torno al 70% para los pacientes que reciben esquemas con rituximab tras la TH y del 21-40% para los que lo reciben previamente. Cabe señalar que para nosotros la supervivencia de los pacientes que lo reciben antes es mayor y que por eso quizás nuestros datos no alcanzan la significación. Esto puede deberse a que alguno de los pacientes que ha recibido el rituximab antes de la TH también lo ha recibido después, mientras que en las series descritas los pacientes solo lo recibían antes, con el empeoramiento en la supervivencia que esto puede suponer. De todas formas, lo importante es destacar que al igual que en otras publicaciones, se encuentra una tendencia a aumento de supervivencia en pacientes no expuestos previamente a rituximab. Además, como se describe por Link *et al* 2013, la supervivencia de pacientes diagnosticados de LBDCG de novo y tratados con esquema R-CHOP es del 73% a 5 años, lo que es idéntico a los datos obtenidos en pacientes tratados con rituximab solo tras la TH.

También se ha estudiado el papel del rituximab como mantenimiento. Para empezar, la tasa de pacientes que reciben mantenimiento dentro de los 64 transformados es del 30%. En la serie de Sarkozy *et al* 2016, entre los 40 pacientes con TH, 16 recibían rituximab de mantenimiento (40%), lo cual es muy similar a lo que hemos observado. Por otro lado, se ha analizado la supervivencia en los pacientes en los que el mantenimiento se realizaba antes y en los que se realizaba después de la TH. Al igual que para lo descrito anteriormente, parece que existe una tendencia a presentar mejor supervivencia en los pacientes expuestos a rituximab tras la TH (83% versus 62%). Destacar aquí que los 8 pacientes que recibían inmuoquimioterapia tras la TH hacían todos ellos un mantenimiento con rituximab posterior.

No existe una teoría clara de porqué esto puede suceder; extrapolando lo visto en LBDCG en los que se ha comprobado este hecho, pueden existir mecanismos de resistencia al rituximab que se activan con la exposición inicial al fármaco. En las guías de tratamiento de LBDCG se discute el beneficio de añadir de nuevo rituximab a los esquemas de tratamiento en la recaída cuando ya lo han recibido previamente. Esto se debe a que se considera un factor pronóstico adverso independiente, aunque si han pasado más de 12 meses de la exposición no afecta al pronóstico. Este hecho puede cobrar importancia ya que actualmente muchos de los pacientes habrán recibido rituximab como parte de su tratamiento antes de sufrir una TH. Solo destacar que en pacientes en los que se haya decidido como tratamiento inicial “esperar y ver” o radioterapia y que posteriormente sufran una TH, es muy importante administrar rituximab posteriormente ya que puede impactar en su supervivencia.

Por todo lo anterior, otra de las líneas a estudiar en nuestra población es si la exposición a rituximab en los 6 meses previos a la transformación estaba impactando en la supervivencia, comparándolo con los pacientes que presentaban TH más tarde. Se ha registrado SPV a 2 años del 74% para TH en menos de 6 meses versus el 85% para TH después de 6 meses de rituximab, próximo a alcanzar la significación. El problema de estos datos es que a 5 años las curvas se cruzan. Analizando las poblaciones, en los pacientes con transformación en menos de 6 meses, a 4 años quedan 5 pacientes vivos que se mantienen en el tiempo y hacen que las dos curvas se crucen, perdiendo la tendencia inicial. Aun así se puede decir que inicialmente la supervivencia entre los pacientes “rituximab resistentes” con TH es inferior a los que presentan intervalos más amplios entre la exposición al fármaco y la transformación.

En resumen, parece que la supervivencia de los pacientes con TH puede estar modificada por la exposición previa o no al rituximab, así como el tiempo transcurrido desde la última dosis de este fármaco.

Transformación precoz frente a tardía

En la serie de Link *et al* 2013 se observaban diferencias de SG a 5 años entre los pacientes con TH en los primeros 18 meses tras el diagnóstico de LF frente a aquellos que lo presentan más tarde (22% vs 76%). Una posible explicación del distinto comportamiento clínico entre una transformación temprana y una más tardía puede ser que la primera traduce una enfermedad más agresiva de entrada, muchas veces con un componente mixto de LBDCG no diagnosticado. El problema es que a día de hoy no existe un punto de corte para separar pacientes con TH precoz o tardía. Como se recoge en la publicación de Link *et al* 2013, el punto de corte de 18 meses está recogido arbitrariamente en base a su experiencia clínica.

En nuestra serie se ha escogido como punto de corte los 12 meses, no encontrando diferencias en la supervivencia entre los dos grupos (67% versus 59%). Como este tema no ha sido suficientemente estudiado y no existe a día de hoy un consenso al respecto no se puede sacar conclusiones. Solo se puede decir que en base a nuestros datos no parecen presentar diferencias en la supervivencia los pacientes con TH antes o después del año tras el diagnóstico de LF.

Otro punto que queda por dilucidar es a partir de qué momento tras el diagnóstico de LF los pacientes pueden considerarse una auténtica TH. A día de hoy muchas series no registran a pacientes como TH si esta ha sido diagnosticada en menos de 6 meses tras el diagnóstico de LF. En nuestra serie se ha seguido este mismo criterio.

Toxicidades de los tratamientos de quimioterapia

Se han recogido las toxicidades de los pacientes en las sucesivas líneas de tratamiento de quimioterapia. Se ha podido observar que las toxicidades aumentaban entre el primer y el segundo esquema de tratamiento utilizado (del 30% de pacientes al 52%) y que posteriormente se quedaban estables en las siguientes líneas. Las toxicidades más importantes en todas las líneas son las toxicidades hematológicas (anemia y trombopenia, neutropenia y neutropenia febril). Posiblemente en relación con el aumento de toxicidades también se ha

recogido que los pacientes tienden a recibir menos número de ciclos, pasando en una primera línea de 6 ciclos a una cuarta línea donde los pacientes reciben 4 ciclos o menos. También pueden influir en estos datos el aumento de progresiones registradas en las líneas sucesivas y que hacen que se suspendan los tratamientos.

Respuestas alcanzadas y progresión de la enfermedad

Existen distintos estudios sobre el LF que han demostrado aumento de SLP y SG en los pacientes que alcanzan una RC frente a aquellos que sólo alcanzan una RP (Soubeyran *et al*, 1991). A la hora de analizar el porcentaje de RC alcanzadas en LF, incluso con los mismos esquemas, estas pueden oscilar entre el 25% y el 85%. Esto puede deberse a las diferencias entre los pacientes incluidos en los estudios y entre los modos de evaluación de las respuestas. Por eso el dato de las respuestas completas o parciales no es fácil de extrapolar entre los distintos estudios.

En nuestra serie, destacar que las respuestas alcanzadas van disminuyendo a lo largo de las sucesivas líneas de quimioterapia. En una primera línea las tasas de RC llegan al 64%, con un 4% de progresiones. Aunque como se ha dicho antes, no es fácil extrapolar datos de respuestas entre distintos estudios, nuestros datos van en consonancia con lo publicado para una primera línea de tratamiento del LF. Por ejemplo, en el estudio de Mondello *et al* de 2016 donde se comparan las dos opciones de quimioterapia actuales de primera línea (R-CHOP y R-Bendamustina) se describe para ambas respuestas completas del 63% y 66%.

Posteriormente, para una segunda línea de tratamiento, donde se incluyen la mayor parte de los pacientes que han sufrido una TH la tasa de RC baja al 45% y las progresiones aumentan hasta un 25%. Estos datos también son muy similares a los recogidos en la serie de Sarkozy *et al* de 2016 en pacientes tratados previamente con inmunoquimioterapia y que se les administra un tratamiento de rescate en la TH. En su serie las respuestas completas son del 50% y las progresiones del 28%. También en la publicación de Montoto *et al* de 2007 se detallan respuestas completas en esta situación del 42% y progresiones del 39%.

Por todo ello y pese a las limitaciones entre las comparaciones, parece que nuestros datos son consistentes con lo esperado en esta situación.

En tercera y cuarta línea las respuestas completas bajan al 33% y al 20%, mientras que las progresiones aumentan al 47% y 60%.

Todo esto está en consonancia con que según va progresando la enfermedad probablemente se vayan acumulando alteraciones moleculares que confieren a las células tumorales mayor agresividad y resistencia a los tratamientos. Por otra parte se van acumulando las toxicidades de los tratamientos y aumenta el deterioro clínico de los enfermos.

Respuesta previa a la transformación

Para seguir con el estudio de características que pueden estar influyendo en la supervivencia de los pacientes se ha analizado si la respuesta al tratamiento previo a la TH impactaba en la SG. Para hacerlo se han recogido los datos de los 49 pacientes que habían recibido tratamiento antes de la TH. De ellos, se ha registrado el tipo de respuesta alcanzada en 41 pacientes (se han retirado 8 pacientes en los que la respuesta no estaba registrada al final del tratamiento). Nos hemos basado en el Método Landmark para poder dar más validez al análisis. Como ya se publicó en 1983 y recientemente en 2008 por Anderson J *et al*, no se puede hacer un análisis de supervivencia en función de la respuesta incluyendo a todos los pacientes iniciales. Por eso se ha analizado las respuestas finales tras 6-8 ciclos de tratamiento. Insistir en que las interpretaciones de supervivencia en función de respuesta a los tratamientos pueden tener asociados sesgos en relación con la propia naturaleza de la enfermedad. De todas formas el objetivo del análisis es describir el comportamiento de la enfermedad, no la eficacia del tratamiento inicial.

Como se ha comentado en los resultados, al inicio, los pacientes con RC tienen supervivencias superiores, lo que iría en consonancia con lo descrito de que los LF con RC tienen mayor SG y SLP. Posteriormente coincidiendo con los 2 años las curvas se cruzan y posteriormente se vuelven a separar. La mediana hasta la TH

vista en nuestra serie es de 24 meses que coincidiría con este punto. Posteriormente de nuevo las curvas vuelven a mostrar mejor SG para los pacientes que habían alcanzado RC. Por el bajo tamaño muestral no podemos sacar conclusiones en firme pero la historia natural de la enfermedad descrita en nuestra serie podría explicar el hallazgo de las curvas.

Transformación clínica frente a transformación histológica

Como se ha descrito nuestra serie recoge datos de 64 pacientes con TH. No se ha podido tener muestra histológica en todos ellos ya que tampoco era un criterio de inclusión inicial. En algunos casos, debido a la rápida progresión de la enfermedad y deterioro clínico de los enfermos no se han podido obtener muestras para análisis de anatomía patológica. En otros casos, las áreas sospechosas de transformación no eran accesibles a biopsia. Por uno u otro motivo, se han obtenido muestras de 29 pacientes (45%), mientras que los 35 restantes (55%) han sido diagnosticados de TH en base a los criterios clínicos descritos al inicio del estudio.

Otro punto a estudiar es si existen diferencias entre las dos poblaciones. En series previas (Al-Tourah *et al* 2008, Link *et al* 2013 y Wagner-Johnson *et al* 2015) también se recogen pacientes diagnosticados de TH por criterios clínicos e histológicos. Lo que estos autores comprobaron es si la SG de ambas series era igual o existían diferencias. Por nuestra parte, se ha realizado un análisis más detallado, incluyendo características iniciales de ambas poblaciones, características en el momento de la TH, tratamientos recibidos, supervivencias y estado actual de los pacientes.

Características iniciales de los pacientes

En cuanto a los antecedentes tóxicos, ocupacionales, infecciosos u oncológicos, no existen diferencias importantes entre los pacientes diagnosticados con muestra histológica y la serie general.

En relación con las características clínicas del LF inicial, se han analizado las diferencias entre ambas poblaciones y si estas alcanzaban la significación estadística. La importancia de este análisis, además del propio interés sobre las características iniciales, es ver si estas cambian en el momento de la transformación.

En el análisis las únicas características diferentes que alcanzan significación son la beta2 microglobulina que está más aumentada en los pacientes con muestra ($p=0,02$) y la afectación visceral que es más frecuente en los pacientes sin muestra ($p=0,02$). El resto de las características en el momento del diagnóstico del LF son similares en las dos poblaciones.

Características clínicas en el momento de la transformación

Cuando se han analizado las características en el momento del diagnóstico de TH, solo alcanzan la significación la hemoglobina por debajo de 12 gr/dL ($p=0,01$) que es más frecuente en pacientes con muestra, la aparición de síntomas B que es más frecuente en los pacientes sin muestra ($p=0,01$) y la afectación visceral que es más frecuente en los pacientes sin muestra ($p=0,005$). Destacar que esta última ya era más frecuente al inicio de la enfermedad con lo que no parece que sea una característica que tenga peso en el momento de sospechar la transformación. Por otro lado, la beta2 microglobulina pierde significación en la TH.

Destacar que la presencia de síntomas B al ser un criterio clínico es normal que esté más frecuentemente presente entre los pacientes que se sospecha TH. La hemoglobina por el contrario es un dato analítico objetivo y es interesante que esté más frecuentemente disminuida en los pacientes en los que hemos confirmado la transformación. La única serie que hace referencia a los criterios en la población con TH confirmada o clínica es la de Al-Tourah *et al* de 2008. No se ha reflejado en la publicación si las diferencias son estadísticamente significativas, solo se describen las diferencias y no se registran los valores de hemoglobina. No se pueden por tanto sacar muchas conclusiones al respecto ni se pueden comparar nuestros resultados con los suyos.

Tratamientos recibidos

En cuanto a los tratamientos que han recibido los pacientes a lo largo de la evolución, parece que entre los pacientes con muestra es más frecuente que se realice un trasplante y en los pacientes sin muestra que se haya decidido inicialmente “esperar y ver”. De todas formas cuando se ha analizado si estas diferencias alcanzan la significación, ninguna lo hace ($p=0,9$).

Por tanto se puede concluir que no existen diferencias en los tratamientos administrados a los pacientes si estos tienen una TH confirmada histológicamente o sospechada clínicamente. Que esto sea así también es importante a la hora de interpretar los datos de supervivencia de ambas series ya que si existiesen diferencias en los tratamientos y posteriormente se objetivasen diferencias en las supervivencias no se podría asegurar que estas no estuviesen relacionadas con los tratamientos recibidos. También se ha analizado la mediana hasta la transformación y es igual en ambas poblaciones (24,3 meses con biopsia y 24,4 en la sospecha clínica)

Supervivencias

Como se ha reflejado anteriormente las 3 series (Al-Tourah *et al* 2008, Link *et al* 2013 y Wagner-Johnston *et al* 2015) más recientes que recogen pacientes con TH en base a biopsia o criterios clínicos han analizado las supervivencias de ambas poblaciones sin encontrar diferencias estadísticamente significativas.

En nuestra serie tampoco existen diferencias en la supervivencia entre los pacientes diagnosticados por criterios clínicos o anatomopatológicos ($p=0,4$). Tampoco existen diferencias en el estado de los pacientes (vivos con enfermedad, vivos sin enfermedad y muertos) ($p=0,9$).

Lo que sí resulta interesante es que al igual que Wagner-Johnston *et al* de 2015, en las curvas se ve que los pacientes diagnosticados por criterios clínicos presentan supervivencias mejores que los confirmados histológicamente. Esto parece lógico ya que el mayor problema del diagnóstico clínico es que probablemente se estén diagnosticando pacientes de TH cuando en realidad lo que pueden tener es una progresión de grado histológico que dé a la enfermedad mayor agresividad. Por

eso es muy importante y se ha insistido en ello, que todo paciente con sospecha de TH tenga una biopsia que lo confirme. No solo es importante de cara a un correcto diagnóstico, sino también para llevar a cabo análisis moleculares que se espera que en un futuro ayuden a tomar las mejores decisiones terapéuticas para el paciente.

7. Factores pronósticos tras transformación histológica

Existen pocos estudios que hayan analizado los factores que influyen en el pronóstico de los enfermos tras sufrir una TH. Según nuestros resultados el tener un estadio IV o presentar un PS ≥ 2 se relacionan con mayor riesgo de muerte. Se ha analizado si alguno de los índices pronósticos que se podrían utilizar (IPI o FLIPI) se asocian significativamente con el estado del enfermo y no se ha encontrado relación estadísticamente significativa.

En el estudio de Montoto *et al* de 2007 se encontraron como factores asociados a peor supervivencia tras TH pobre PS (no está descrito el valor utilizado), estadio III-IV, edad ≥ 60 años, bajo nivel de hemoglobina y alto de LDH. También destacan que tener una demostración histológica de la TH se asocia con peor supervivencia. En el estudio de Al-Tourah *et al* de 2008 se demostraba que presentar una enfermedad extensa versus localizada en el momento de la TH también se asociaba con peor supervivencia. Para finalizar, en el estudio de Conconi *et al* de 2012, tanto la edad superior a 60 años como el PS >1 se asociaban a peor supervivencia.

Por tanto parece que en el momento de sufrir una TH factores relacionados con la situación general del enfermo (en forma de PS o edad), de la enfermedad (estadio) o valores analíticos (hemoglobina o LDH) pueden ser indicativos de mayor posibilidad de supervivencia o no. También destacar la influencia de nuevo de tener una confirmación histológica de la enfermedad frente a presentar una sospecha clínica.

8. Análisis molecular de pacientes con linfoma folicular sin transformación frente a pacientes con transformación histológica

La transformación celular y el mantenimiento tumoral son procesos complejos sostenidos por un gran número de lesiones genéticas y señales extracelulares. Para entender el proceso de génesis tumoral e identificar dianas terapéuticas es esencial reconocer y caracterizar genes que contribuyan al fenotipo tumoral. La secuenciación sistemática del ADN de las células cancerígenas ha demostrado que las células tumorales presentan decenas de mutaciones que afectan a los genes reguladores del crecimiento celular, supervivencia y migración.

En nuestra serie se ha llevado a cabo un análisis comparativo entre los genes mutados frecuentemente en los 22 pacientes con LFt y los 20 con FLnt. Hemos encontrado 8 genes más recurrentemente mutados en ambas cohortes de pacientes y que están descritos en anteriores estudios como genes implicados en la patogénesis del LF, lo que valida los resultados. Estos genes serían: *CREBBP* (mutado en el 59% de los pacientes), *MLL2/KMT2D* (48%), *BCL2* (24%), *IGLL5* (24%), *EP300* (17%), *TNFRSF14* (14%), *MLL3/KMT2C* (12%) y *PAX5* (12%).

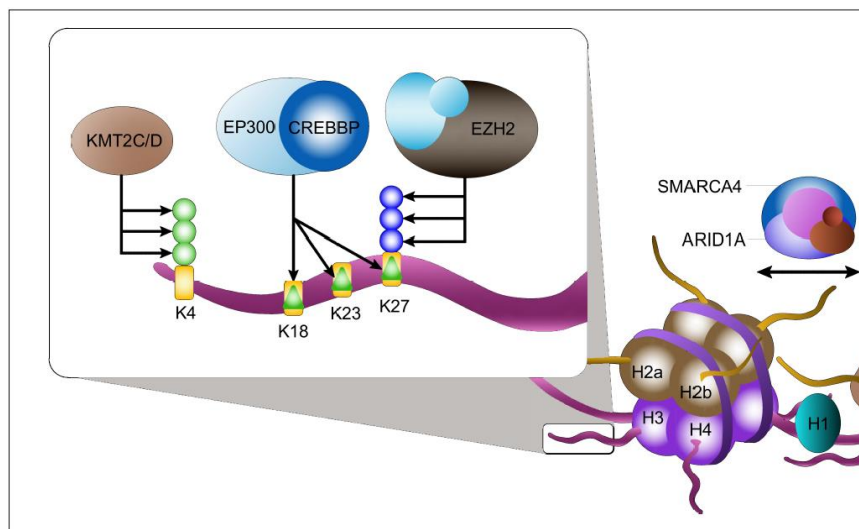
Uno de los genes más frecuentemente mutado en las dos poblaciones ha sido *BCL2*, encontrándose su alteración en el 30% de los LFnt y en el 23% de los LFt. Una de las alteraciones genéticas características del LF es la t(14;18) que produce la sobreexpresión del gen antiapoptótico *BCL-2*. Esta alteración está presente en más del 80% de los pacientes con LF lo que sugiere que se trataría de un evento precoz, un “hit” oncogénico de esta enfermedad (Tsujimoto *et al*, 1984). Pero la observación de que además de sus funciones antiapoptóticas *BCL-2* tiene propiedades anti-proliferativas (Zinkel *et al*, 2006), unido a que la t(14;18) aparece en individuos sanos indica que la sobreexpresión de *BCL-2* por si sola es insuficiente para inducir la aparición de un LF. Por tanto, en base a que deben existir distintos mecanismos moleculares implicados en su aparición, en los últimos años se han investigado otras vías que podrían estar alteradas en esta enfermedad. Principalmente serían las que afectan a la vía NF-KB, a la reparación del DNA y a la familia de reguladores de la cromatina o modificadores epigenéticos.

En cuanto a esta última familia, los modificadores epigenéticos, hay evidencias que indican que es una de las familias cuyas alteraciones juegan un papel importante en la patogénesis del LF. Serían factores relacionados con la modificación de la actividad del ADN por medio de mecanismos epigenéticos pero sin alterar su secuencia, afectando, principalmente a las histonas y su actividad. Las histonas son proteínas básicas que forman la cromatina junto con el ADN. Su principal misión es servir como una especie de código que determina si el gen ha de ser silenciado o expresado. Si se alteran, se alteraría la regulación epigenética de la expresión genética sin alterar la secuencia del ADN. En nuestro estudio se han encontrado varios miembros de esta familia mutados en ambas cohortes, siendo, de hecho, los que se alteran con mayor frecuencia:

- *MLL2/KMT2D* y *MLL3/KMT2C*: en estudios recientes se han registrado tasas de mutación del gen *MLL2* hasta del 89% en pacientes con LF, sugiriendo que podría tratarse igual que *BCL-2* de un evento conductor a la hora de que aparezca un LF. Se ha visto que la mayoría de las mutaciones somáticas observadas en *MLL2* son inactivaciones lo que sugiere que puede comportarse como un gen supresor tumoral (Morin *et al*, 2012). En el caso de *MLL3* existe menos información concreta en LF pero se sabe que se une a *MLL2* para formar un complejo proteico. Según nuestros datos un 50% de los LFnt y un 45% de los LFt presentan mutación de *MLL2*. En cuanto a *MLL3*, un 15% de los LFnt y un 9% de los LFt.
- *CREBBP*: se ha registrado su alteración en un 30-50% de los pacientes con LF, considerándolo por su frecuencia un evento precoz en el desarrollo de esta enfermedad (Lunning *et al*, 2015). Se han descrito mutaciones inactivadoras de este gen en el LF, funcionando como un gen supresor tumoral. Lo que se ha observado es que sus mutaciones conducen a la evasión inmune al disminuir la expresión de MHC tipo II y produciendo así bajos niveles en la estimulación de linfocitos T (Green *et al*, 2015). En nuestra serie un 70% de los LFnt y un 50% de los LFt presentan mutación de *CREBBP*.
- *EP300*: se ha registrado mutación inactivadora en este gen en el 10-15% de los LF. Se ha postulado una semejanza estructural y funcional con *CREBBP* y se ha insistido en la que su inactivación puede jugar un papel específico en la

patogénesis de los linfomas B. Se ha postulado que las proteínas mutadas de EP300 y CREBBP son deficientes acetilando BCL6 y p53, provocando la activación de oncoproteínas e inactivación de p53 (Pasqualucci *et al*, 2011). En nuestra serie presentan mutación un 15% de los LFnt y un 18% de los LFt.

Gráfico 5: Reguladores de la cromatina o modificadores epigenéticos



Por tanto, de los 8 genes frecuentemente mutados en ambas cohortes, 4 formarían parte de esta familia y como hemos descrito ya se había publicado en numerosos estudios previos su posible importancia en la patogénesis del LF. En cuanto a *EZH2* pasaremos a describirlo posteriormente al tratar genes con más carga mutacional en pacientes que sufren transformación.

Otra de las vías que se ha encontrado alterada sería la de reguladores de vía NF- κ B a través de las mutaciones en ambas cohortes del gen *TNFRSF14*. Este gen codifica un miembro de la familia del receptor de TNF. Está ampliamente descrita su relación con la patogénesis del LF actuando como un gen supresor tumoral relacionado también con *MLL2* (Ortega-Molina *et al*, 2015). Se ha descrito su inactivación en el 20% de los LF, incluso relacionándose con peor supervivencia (Cheung *et al*, 2010). En nuestra serie está mutado en el 15% de los LFnt y en el 14% de los FLt.

En cuanto a *PAX5* existe menos información sobre su relación con el LF, aunque se sabe que forma parte de la familia de unos factores de transcripción conocidos como “paired box” (PAX). Están localizados en el cromosoma 9 y sí se ha descrito

su relación con la LLC a través de la t(9;14), así como la activación de proteínas específicas de células B (Liu *et al*, 2016). Por último, *IGLL5* es un gen que codifica uno de los polipéptidos de la inmunoglobulina lambda. Se ha relacionado con neoplasias de células B, sobre todo en LLC (Kasar *et al*, 2015). Recientemente se ha relacionado también con pacientes con LBDCG refractarios a tratamiento (Mareschal *et al*, 2016).

En resumen, los 8 genes más frecuentemente mutados en LFt y LFnt son genes implicados, y la mayoría de ellos relacionados, con la patogénesis del LF o de otros procesos tumorales de células B. Destacamos la importancia en nuestro estudio de la alteración de genes implicados en la regulación de la cromatina, así como la mutación de *BCL2*. Cabe señalar que aunque la proteína de BCL2 fue descubierta hace más de 30 años, las mutaciones de *BCL2* son menos conocidas y su papel concreto en LF y LBDCG queda por aclarar. Hoy en día han sido asociadas con la aparición de TH (Correia *et al*, 2014) y se considera un factor pronóstico independiente relacionado con el incremento de riesgo de muerte por linfoma (Correia *et al*, 2015).

Posteriormente se presenta una breve descripción de la función conocida de algunos de los genes que se han encontrado mutados en pacientes que sufren transformación:

- *DTX1*: es un miembro de la vía de señalización de Notch, típicamente descrito en LBDCG y en linfomas MALT. En estudios de secuenciación ya se había descrito el papel de este gen en LBDCG (Morin *et al*, 2013). Se ha encontrado alterado hasta en un 12% de las muestras de LBDCG en población asiática, con una incidencia inferior (4-6%) en población general (Noel F *et al*, 2014). En nuestra población se encuentra mutado en el 12% de los pacientes, de forma aumentada claramente en LFt (18%) frente a LFnt (5%).

- *NOTCH2*: las mutaciones tanto en NOTCH1 como en NOTCH2 han sido descritos en LF en torno a un 4% de los casos recientemente (Krysiak *et al*, 2016). Eran mutaciones típicamente relacionadas con LBDCG y linfomas MALT. La vía de Notch está relacionada con la proliferación y la activación linfocitaria, así como con la vía NF- KB (Zhang X *et al*, 2014). Es un gen descrito dentro de los 50 genes mutados en LBDCG, por encima del 5% (Forbes *et al*, 2010). Además de estar relacionado con DTX1 ya que ambos forman parte de la vía Notch, se encuentra mutado en la misma proporción que el anterior (12%) y de forma aumentada en LFt (18%) frente a LFnt (5%).

- *LRP1B*: es un gen también incluido en los 50 genes mutados en LBDCG en el catálogo de mutaciones somáticas en cáncer (COSMIC) (Forbes *et al*, 2010), presentando mutaciones en más del 5% de los casos. Al igual que los dos anteriores, en nuestra serie está mutado en el 12% de los pacientes (5% LFnt y 18% LFt)

- *CSMD3*: no se sabe con exactitud el papel de este gen, se cree que es un supresor tumoral que se ha encontrado alterado en tumores como oligodendrogliomas y en linfomas en los LBDCG primarios de sistema nervioso central (Vater *et al*, 2015). En nuestra serie está mutado en el 12% de los pacientes, también con preferencia en LFt (5 versus 18%).

- *POU2F2 (OCT2)*: se ha descrito en la patogénesis del LF, encontrándose en un 8-5% de los pacientes (Li H *et al*, 2014 y Ktrysiak *et al*, 2016). *POU2AF1 (OCA-B)* es un coactivador específico de este gen, juntos promueven la transcripción de inmunoglobulinas. En LBDCG también se ha descrito su expresión y se le ha considerado una vía importante para desarrollar nuevas terapias para control de esta enfermedad (Hodson *et al*, 2016). En nuestra serie cabe destacar que un 10% de los pacientes presentan mutaciones en este gen y que ninguno de los pacientes con LFnt lo tienen, solo los pacientes con LFt (0 versus 18%).

- *PCLO*: todavía no se conoce la patogénesis de este gen en linfomas. Se ha descrito su aparición en un estudio de secuenciación del exoma en pacientes con LBDCG recaídos o refractarios (Mareschal *et al*, 2016). Al igual que el anterior solo hemos encontrado su mutación en pacientes con LFt (0 versus 14%), aunque en la serie general se encuentra con menos frecuencia mutado (7%).

- *ATM*: es un gen localizado en el brazo largo del cromosoma 11 (11q23), codifica una proteína quinasa implicada en la regulación de la división celular y en la reparación de daños del ADN a través de la fosforilación de TP53. Las mutaciones que afectan a este gen causan la enfermedad denominada Ataxia-Telangiectasia y además predisponen a la aparición de diferentes tipos de cáncer (estómago, vejiga, páncreas, pulmón y ovario). Forma parte de los genes incluidos en COSMIC también en relación con LBDCG. Existen estudios centrados en SNPs que han encontrado la asociación entre la alteración de este gen y la aparición de LBDCG y con el linfoma linfocítico de células pequeñas (Rendleman *et al*, 2014). En LLC la presencia de mutaciones o pérdida de material genético en ATM, registrada en 12-18% de los pacientes, tiene un pronóstico negativo ampliamente estudiado (Tees *et al*, 2016). En nuestra serie está mutado en el 10% de los pacientes (5% en LFnt versus 14% en LFt).

- *PIM1*: de nuevo descrito entre los 50 genes mutados en LBDCG en una proporción superior al 10% (Forbes *et al*, 2010). Se cree que juega un papel en la proliferación y supervivencia de las células linfocitarias. Ha sido recientemente descrito como una de las posibles vías de resistencia a ibrutinib en LBDCG (Kuo *et al*, 2016) y se están desarrollando fármacos para inhibirlo como tratamiento de esta patología.

Se ha considerado un evento temprano en la linfogénesis del LBDCG. En nuestra serie también está mutado en el 10% de los pacientes (5% en LFnt versus 14% en LFt).

- *BCL7A*: también en estudios de SNPs se ha encontrado que *BCL7A* está asociado de forma estadísticamente significativa con LBDCG (Morton *et al*, 2009). Se había descrito previamente como uno de los genes alterados en LBDCG que se asociaba con peor pronóstico (Alizadeh *et al*, 2000). En nuestra serie hemos registrado su mutación en el 10% de los pacientes (5% en LFnt y 14% en LFt).

- *HIST1H1E*: gen relacionado con la histona H1 que ha sido descrito en LF. Se había descrito como un gen que se encontraba en un progenitor común de los pacientes con LF y LFt (Pasqualucci *et al*, 2014). También ha sido descrito en LBDCG (Morin *et al*, 2013). En nuestra serie hemos registrado su mutación en el 10% de los pacientes (5% en LFnt y 14% en LFt).

- *IRF8*: es un factor de transcripción con un papel crítico en el desarrollo del linfocito B. Se ha descrito una incidencia de mutaciones inactivadoras en el 6% en pacientes con LF (Li H *et al*, 2014). También se ha descrito su papel oncogénico en LBDCG (Zhang J *et al*, 2013). Al igual que *BCL7A* y *HIST1H1E* se encuentra mutado en 10% de nuestra serie (5% en LFnt y 14% en LFt)

- *EZH2*: sería otro de los genes importantes de la familia de los modificadores de la cromatina. Hay evidencia que la acción de *EZH2* antagoniza a la de *CREBBP* y *EP300* (Pasini *et al*, 2010). La mutación de *EZH2* fue el primer gen modificador de cromatina descrito para LF y LBDCG. Su acción sería silenciamiento y represión de genes encargados de inhibir el ciclo celular, por tanto la de un proto-oncogen. También se ha visto que está presente a lo largo de la evolución y transformación del LF (Bodor *et al*, 2013). En nuestra serie está mutado en el 7% de los pacientes (5% en LFnt versus 9% en LFt). Tanto *EZH2* como *TNFPAl3* y *FOXO1*, descritos a continuación, presentan diferencias menos llamativas entre LFt y LFnt.

- *TNFPAl3*: es un gen relacionado con la supervivencia celular. Se ha visto su alteración aproximadamente en el 10% de los LF y en el 20% de los LBDCG subtipo

ABC. También se había descrito previamente su posible importancia en la TH (Okosun *et al*, 2014). Al igual que el anterior, en nuestra serie está mutado en el 7% de los pacientes (5% en LFnt versus 9% en LFt).

- *FOXO1*: no está claramente descrita su función pero es uno de los 7 genes incluidos en la nueva escala pronóstica para LF (m7-FLIPI) junto con *EZH2*, *ARID1A*, *MEF2B*, *EP300*, *CREBBP* y *CARD11* (Pastore *et al*, 2015). Por tanto, se relaciona con mal pronóstico en LF y también en LBDCG en recientes estudios de secuenciación (Novak *et al*, 2015). Presenta alta tasa mutacional al estar presente en el 17% de los pacientes, aunque las diferencias entre pacientes con LFnt (15%) y LFt (18%) es más baja.

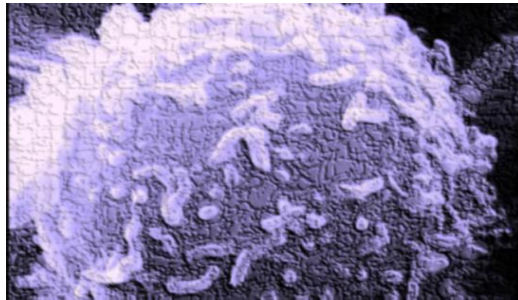
En resumen, de los 14 genes encontrados más frecuentemente mutados en LFt, 6 llaman especialmente la atención. Primero, *CSMD3*, *NOTCH2*, *DTX1*, *LRP1* que destacan por su frecuencia y su diferencia en mutaciones entre LFt y LFnt, segundo la importancia de *POU2F2* y *PCLO* ya que solo se han encontrado mutados en LFt. Además de estos, el resto han sido descritos muchos de ellos en LBDCG (*PIM1*, *BCL7A*, *IRF8*), otros se habían asociado previamente a transformación (*TNFPA13*, *EZH2*, *HIST1H1E*, aunque en nuestra serie son los que presentan diferencias más bajas entre LFt y LFnt) y otros estaban descritos en neoplasias linfoides y asociados a mal pronóstico (*ATM*, *FOXO1*). Algunos de ellos también han sido descritos en pacientes con LF pero cabe destacar que muchos de los estudios en LF no describen o diferencian si los pacientes sufren posteriormente una transformación.

Recientemente se ha publicado un estudio que lleva a cabo secuenciación masiva y a su vez realiza una distinción entre pacientes con LF que no transforman (al igual que nuestra serie con 5 años de seguimiento sin transformación) y los que sí lo hacen. En este estudio no encuentran en las muestras iniciales genes que puedan predecir la transformación ya que, según los autores, tras secuenciar la muestra de la transformación encuentran patrones clonales divergentes, es decir, las muestras de la transformación están compuestas por clones raros o ausentes en el

diagnóstico inicial. De todas formas y teniendo en cuenta las diferencias con lo hasta aquí expuesto, cabe destacar que encuentran genes como *PIM1* y *EZH2* que están relacionados con TH. También encuentran que genes como *CREBBP*, *TNFRSF14*, *MLL2* y *MLL3* están ya frecuentemente mutados en la muestra inicial del LFt. Describen que otros genes como *HIST1H1E* pueden ser mutaciones iniciales en algunos casos y adquiridas en el tiempo en otros (Kridel *et al*, 2016). Una de las principales diferencias metodológicas con nuestro estudio y que puede explicar las diferencias sobre genes presentes desde el principio en los pacientes que van a sufrir una TH es que en el estudio de Kridel *et al* no hacen secuenciación profunda de las muestras iniciales de LF. Así, si existiese una subpoblación que presentase mutaciones pero en una tasa muy baja no podrían encontrarla, por el contrario, nosotros sí tenemos la capacidad de hacerlo al llevar a cabo secuenciación de alta profundidad.

También destacar que en nuestra serie hemos encontrado que presentar más de 4 mutaciones en la muestra inicial de LF se asocia de forma clara con la aparición posterior de transformación.

CONCLUSIONES



1. La incidencia acumulada de transformación a 5 años es del 7%, con mayor tasa de incidencia el primer año tras diagnóstico de linfoma folicular y alcanzando un plateau a los 14 años.
2. Características clínicas como aumento de LDH, FLIPI moderado-alto, ECOG ≥ 1 versus 0 y presencia de síntomas B, son factores más frecuentemente presentes en pacientes que sufren TH. También lo son las opciones de tratamiento inicial de “esperar y ver” y en menor medida, el no utilizar antraciclinas o rituximab.
3. La supervivencia es peor en los pacientes que sufren una transformación frente a los no transformados; especialmente si presentan estadio IV, ECOG ≥ 2 , así como si ésta se produce en menos de 6 meses tras la última dosis de rituximab. No existen diferencias en función de las transformaciones precoces (menos de 12 meses desde el diagnóstico de linfoma folicular) o tardías.
4. Existen 22 genes de los 186 estudiados que están frecuentemente mutados en linfoma folicular, concretamente en más del 7% de los pacientes. Estos son: ATM, BCL2, BCL7A, CREBBP, CSMD3, DTX1, EP300, EZH2, FOXO1, HIST1H1E, IGLL5, IRF8, LRP1B, MLL2/KMT2D, MLL3/KMT2C, NOTCH2, PAX5, PCLO, PIM1, POU2F2, TNFAIP3 y TNFRSF14.
5. Los pacientes que tienen 4 o más mutaciones en la muestra inicial de linfoma folicular presentan mayor riesgo de sufrir transformación histológica
6. En la muestra inicial de linfoma folicular existen 14 genes que pueden considerarse predictores de transformación al presentar más mutaciones en pacientes que sufren transformación frente a los que no lo hacen. Estos son, por orden de frecuencia mutacional en pacientes transformados: CSMD3, DTX1, FOXO1, LRP1B, NOTCH2, PIM1, POU2F2, ATM, BCL7A, HIST1H1E, IRF8, PCLO, EZH2 y TNFAIP3

BIBLIOGRAFÍA

- Acker B, Hoppe RT, Colby TV, et al. Histologic conversion in the non-Hodgkin's lymphomas. J Clin Oncol 1983;1:11-16
- Al-Mansour M, Connors JM, Gascoyne RT et al. Transformation to aggressive lymphoma in nodular lymphocyte-predominant Hodgkin's lymphoma. J Clin Oncol 2010;28:793-99
- Al-Tourah AJ, Gill K, Hoskins P et al. The impact of initial treatment of advanced stage indolent lymphoma on the risk of transformation (abstract) J Clin Oncol 2006;24:Abstract 7510
- Al-Tourah AJ, Savage KJ, Gill KK, et al. Addition of rituximab of CHOP chemotherapy significantly improves survival of patients with transformed lymphoma. Blood 2007;110:abstr 790
- Al-Tourah AJ, Gill KK, Chhanabhai M, et al. Population-based analysis of incidence and outcome of transformed non-Hodgkin's lymphoma. J Clin Oncol 2008;26:5165-69
- Al-Tourah AJ, Sehn LG, Moccia AA, et al. Transformation of follicular lymphoma in the era of immunochemotherapy: a population-based study from British Columbia. J Clin Oncol 2012;30:522s (suppl;abstr 8049)
- Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. Nature 2000;403:3886-96
- Alvaro T, Lejeune M, Salvadó MT, et al. Immunohistochemical patterns of reactive microenvironment are associated with clinicobiologic behavior in follicular lymphoma patients. J Clin Oncol 2006;24:5350-57
- Álvaro T, Cruz-Merino L, Henao-Carrasco F, et al. Tumor microenvironment and immune effects of antineoplastic therapy in lymphoproliferative syndromes. J Biomed Biotechnol 2010;2010:846872
- Anderson J, Kevin C and Gelber R. Analysis of survival by tumor response and other comparisons of time-to-event by outcome variables. J Clin Oncol 2008;26:3913-15
- Anderson L, Gadalla S, Morton L et al. Population-based study of autoimmune conditions and the risk of specific lymphoid malignancies. Int J Cancer 2009;125:398-405
- Anderson T, Chabner BA, Young RC, et al. Malignant lymphoma. 1. The histology and staging of 473 patients at the National Cancer Institute. Cancer 1982; 50:2699-707
- Andreadis C, Schuster SJ, Chong EA, et al. Long-term event-free survivors after high-dose therapy and autologous stem-cell transplantation for low-grade follicular lymphoma. Bone Marrow Transplant 2005;36:955-61
- Ardeschna KM, Smith P, Norton A, et al. Long-term effect of a watch and wait policy versus immediate systemic treatment for asymptomatic advanced-stage non-Hodgkin lymphoma: a randomised controlled trial. Lancet 2003;361:516-22

- Ardeschna K, Qian W, Smith P et al. Rituximab versus watch and wait approach in patient with advanced-stage, asymptomatic, non-bulky follicular lymphoma: an open-label randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014;15:424-35
- Armand P, Nagler A, Weller EA et al. Disabling immune tolerance by programmed death-1 blockade with pidilizumab after autologous hematopoietic stem-cell transplantation for diffuse large B-cell lymphoma: results of an international phase II trial. *J Clin Oncol* 2013;31:4199-206
- Armitage JO, Dick FR, Corder MP. Diffuse histiocytic lymphoma after histologic conversion: a poor prognostic variant. *Cancer Treat Rep* 1981;65:413-18
- Armitage J, Weisenburger D. New approach to classifying non-Hodgkin's lymphomas: clinical features of the major histologic subtypes: Non-Hodgkin's lymphoma classification project. *J Clin Oncol* 1998;16:2780-95
- Armitage J, Longo D. Is watch and wait still acceptable for patients with low-grade follicular lymphoma? *Blood* 2016;127:2804-08
- Bains P, Al Tourah A, Campbell BA, et al. Incidence of transformation to aggressive lymphoma in limited-stage follicular lymphoma treated with radiotherapy. *Ann Oncol* 2013;24:428-32
- Ban-Hoefen M, Kelly JL, Bernstein SH et al. High-dose therapy and autologous stem cell transplant for transformed non-Hodgkin lymphoma in the rituximab era. *Leuk Lymphoma* 2012;53:830-35
- Ban-Hoefen M, Vanderplas A, Crosby-Thompson AL et al. Transformed non-Hodgkin lymphoma in the rituximab era: analysis of the NCCN outcomes database *Br J Haematol* 2013;163:487-95.
- Bastion Y, Sebban C, Berger F, et al. Incidence, predictive factors, and outcome of lymphoma transformation in follicular lymphoma patients. *J Clin Oncol* 1997;15:1587-94
- Baus et al. STAT6 and STAT1 are essential antagonistic regulators of cell survival in classical Hodgkin lymphoma cell line. *Leukemia* 2009;23:1885-93
- Bende RJ, Smit LA, van Noesel CJ. Molecular pathways in follicular lymphoma. *Leukemia* 2007;21:18-29
- Berglund A, Enblad G, Carlson K, et al. Long-term follow-up of autologous stem-cell transplantation for follicular and transformed follicular lymphoma. *Eur J Haematol* 2000;65:17-22
- Bernstein SH, Burack WR. The incidence, natural history, biology and treatment of transformed lymphomas. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program* 2009;1:532-41
- Biagi JJ, Seymour JF. Insights into the molecular pathogenesis of follicular lymphoma arising from analysis of geographic variation. *Blood* 2002; 99:4265-75
- Bingle L, Brown NJ, Lewis CE. The role of tumour-associated macrophages in tumour progression: implications for new anticancer therapies. *J Pathol* 2002;196:254-65

- Blaker Y, Eide M, Liestol K, et al. High dose chemotherapy with autologous stem cell transplant for patients with transformed B-cell non-Hodgkin lymphoma in the rituximab era. *Leuk and Lymphoma* 2014;55:2319-27
- Blommfield C, Arthur D, Frizzera G et al. Nonrandom chromosome abnormalities in lymphoma. *Cancer Res* 1983;43:2975
- Bodor C, Grossmann V, Popov N et al. EZH2 mutations are frequent and represent an early event in follicular lymphoma. *Blood* 2013;122:3165-68
- Bradford P, Freedman D, Goldstein A et al. Increased risk of second primary cancers after a diagnosis of melanoma. *Arch Dermatol* 2010;146:265-72
- Brice P, Bastion Y, Lepage E et al. Comparison in low-tumor-burden follicular lymphomas between an initial no-treatment policy, prednimustine or interferón alfa: a randomized study from the Groupe d'Étude des Lymphomes Folliculaires. *Groupe d'Étude des Lymphomes de l'Adulte J Clin Oncol* 1997;15:1110-17
- Brodtkorb M, Lingjaerde C, Huse K, et al. Whole-genome integrative analysis reveals expression signatures predicting transformation in follicular lymphoma. *Blood* 2014 Feb 13;123(7):1051-54
- Byers RJ, Sakhinia E, Joseph P, et al. Clinical quantitation of immune signature in follicular lymphoma by RT-PCR-based gene expression profiling. *Blood* 2008; 111:4764-70
- Campbell BA, Voss N, Woods R, et al. Long-term outcomes for patient with limited stage follicular lymphoma: involved regional radiotherapy versus involved node radiotherapy. *Cancer* 2010;116:3797-806
- Canioni D, Salles G, Mounier N, et al. High numbers of tumor-associated macrophages have an adverse prognostic value that can be circumvented by rituximab in patients with follicular lymphoma enrolled onto the GELA-GOELAMS FL-2000 trial. *J Clin Oncol* 2008;26:440-46
- Capello D, Vitolo L, Pasqualucci et al. Distribution and pattern of BCL-6 mutations throughout the spectrum of B-cell neoplasia. *Blood* 2000;95:651-59
- Carlotti E, Wrench D, Matthews J et al. Transformation of follicular lymphoma to diffuse large B-cell lymphoma may occur by divergent evolution from a common progenitor cell or by direct evolution from the follicular lymphoma clone. *Blood* 2009;113:3553-57
- Carreras J, Lopez-Guillermo A, Fox BC, et al. High numbers of tumor-infiltrating FOXP3-positive regulatory T cells are associated with improved overall survival in follicular lymphoma. *Blood* 2006; 108:2957-64
- Casulo C, Richard Burack W, Friedberg J. Transformed follicular non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2015;125:40-47
- Cerhan JR, Ansell SM, Fredericksen ZS, et al. Genetic variation in 1253 immune and inflammation genes and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2007;110:4455-63

- Cerhan JR, Wang S, Mauer MJ, et al. Prognostic significance of host gene polymorphisms in follicular lymphoma. *Blood* 2007;109:5439-46
- Chan YL, Vydianath B, Inman CF et al. R-CHOP alone for rituximab naive transformed follicular lymphoma has an excellent outcome. *ASH* 2013; poster abstract 4392
- Chau I, Jones R, Cunningham D, et al. Outcome of follicular lymphoma grade 3: is anthracycline necessary as front-line therapy? *Br J Cancer* 2003; 89:36-42
- Chen CI, Crump M, Tsang R et al. Autotransplants for histologically transformed follicular non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol* 2001;113:202-08
- Cheung KJ, Shah SP, Steidl C, et al. Genome-wide profiling of follicular lymphoma by array comparative genomic hybridization reveals prognostically significant DNA copy number imbalances. *Blood* 2009; 113:137-48
- Cheung KJ, Johson NA, Affleck JG et al. Acquired TNFRSF14 mutations in follicular lymphoma are associated with worse prognosis. *Cancer Res* 2010;70:9166-74
- Clavert A, Le GS, Brissot E, et al. Reduced-intensity conditioning allogeneic transplant for relapsed or transformed aggressive B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2010;51:1502-08
- Cocco P, t'Mannetje A, Fadda D et al. Occupational exposure to solvents and risk of lymphoma subtypes: results from the Epilymph case-control study. *Occup Environ Med* 2010;67:341-47
- Conconi A, Ponzio C, Lobetti-Bodoni C et al. Incidence, risk factors and outcome of histological transformation in follicular lymphoma. *Br J Haematol* 2012;157:188-96
- Conde L, Halperin E, Akers NK, et al. Genome-wide association study of follicular lymphoma identifies a risk locus at 6p21.32. *Nat Genet* 2010; 42:661-64
- Correia C, Schneider PA, Dai H, et al. BCL2 mutations are associated with increased risk of transformation and shortened survival in follicular lymphoma. *Blood*. 2014;125:658-67
- Correia C, Lee SH, Meng XW, et al. Emerging understanding of Bcl-2 biology: Implications for neoplastic progression and treatment. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1853:1658-71
- Cory S, Adams JM. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nat Rev Cancer* 2002; 2:647-56
- Cory S, Adams JM. Killing cancer cells by flipping the Bcl-2/Bax switch. *Cancer Cell* 2005; 8:5-6
- Cullen MH, Lister TA, Brearley RI et al. Histological transformation of non-Hodgkin's lymphoma: a prospective study. *Cancer* 1979;44:645-51
- Czuczman MS, Vose JM, Witzig TE, et al. The differential effect of lenalidomide monotherapy in patients with relapsed or refractory transformed non-Hodgkin's lymphoma of distinct histological origin. *Br J Haematol* 2001;154:477-81

-
- Dal Maso L, Fanceschi S. Epidemiology of non-Hodgkin lymphomas and other haemolymphopoietic neoplasms in people with AIDS. *Lancet Oncol* 2003;4:110-19
 - Dave SS, Wright G, Tan B et al. Prediction of survival in follicular lymphoma based on molecular features of tumor-infiltrating immune cells. *N Engl J Med* 2004;351:2159-69
 - Davies AJ, Rohatiner AZ, Howell S, et al. Tositumomab and iodine I131 tositumomab for recurrent indolent and transformed B-cell non Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2004;22:1469-79
 - Davies AJ, Lee A, Taylor C et al. A limited role for TP53 mutation in the transformation of follicular lymphoma to diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia* 2005;19:1459-65
 - Davies AJ, Rosenwald A, Wright G, et al. Transformation of follicular lymphoma to diffuse large B-cell lymphoma proceeds by distinct oncogenic mechanisms. *British J Haematology* 2007;136:286-93
 - De Jong D, Voetdijk BM, Beverstock GC, et al. Activation of the c-myc oncogene in a precursor-B-cell blast crisis of follicular lymphoma, presenting as composite lymphoma. *N Engl J Med* 1988;318:1373-78
 - De Jong D. Molecular pathogenesis of follicular lymphoma: a cross talk of genetic and immunologic factors. *J Clin Oncol* 2005;23:6358-63
 - De Jong D, Boer JP. Predicting transformation in follicular lymphoma. *Leukemia and Lymphoma* 2009;50:1406-11
 - De Jong D, Koster A, Hagenbeck A, et al. Impact of the tumor microenvironment on prognosis in follicular lymphoma is dependent on specific treatment protocols. *Haematologica* 2009;94:70-77
 - Deconinck E, Foussard C, Milpied N, et al. High-dose therapy followed by autologous purged stem-cell transplantation and doxorubicin-based chemotherapy in patients with advanced follicular lymphoma: a randomized multicenter study by GOELAMS. *Blood* 2005; 105:3817-23
 - Do B, Lossos IS, Thorstenson Y, et al. Analysis of FAS (CD95) gene mutations in higher-grade transformation of follicle center lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2003;44:1317-23
 - Dölken G, Illerhaus G, Hirt C, Mertelsmann R. BCL-2/JH rearrangements in circulating B cells of healthy blood donors and patients with nonmalignant diseases. *J Clin Oncol* 1996; 14:1333-44
 - Doocey RT, Toze CL, Connors JM, et al. Allogeneic haematopoietic stem-cell transplantation for relapsed and refractory aggressive histology non-Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol* 2005;131:223-30
 - Eide MB, Liestol K, Lingjaerde OC et al. Genomic alterations reveal potential for higher grade transformation in follicular lymphoma and confirm parallel evolution of tumor cell clones. *Blood* 2010;116:1489-97

- Eide MB, Lauritz GF, Kvalheim G, et al. High dose chemotherapy with autologous stem cell support for patients with histologically transformed B-cell non-Hodgkin lymphomas. A Norwegian multi centre phase II study. *Br J Haematol* 2011;152:600-10
- Elenitoba-Johnson KS, Gascoyne RD, Lim MS, et al. Homozygous deletions at chromosome 9p21 involving p16 and p15 are associated with histologic progression in follicle center lymphoma. *Blood* 1998;91:4677-85
- Elenitoba-Johnson KS, Jenson SD, Abbott et al. Involvement of multiple signalling pathways in follicular lymphoma transformation: p38-mitogen-activated protein kinase as target for therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:7259-64
- Engels E, Parsons R, Besson C et al. Comprehensive evaluation of medical conditions associated with risk of non-Hodgkin lymphoma using medicare claims ("MedWAS") *Cancer Epidemiol, Biomark and Prev* 2016;25:1105-13
- Ersboll J, Schultz HB, Pedersen-Bjergaard J, Nissen NI. Follicular low-grade non-Hodgkin's lymphoma: long-term outcome with or without tumor progression. *Eur J Haematol* 1989;42:1 55-63
- Farinha P, Al-Tourah A, Gill K et al. The architectural pattern of FOXP3-positive T cells in follicular lymphoma is an independent predictor of survival and histologic transformation. *Blood* 2010;115:289-95
- Federico M, Bellei M, Marcheselli L et al. Follicular Lymphoma International Prognostic Index 2: A New Prognostic Index for Follicular Lymphoma developed by the International Follicular Lymphoma Prognostic factor Project. *J Clin Oncol* 2009; 27:4555-62
- Federico M, Luminari S, Dondi A, et al. R-CVP versus R-CHOP versus R-FM for the initial treatment of patients with advanced-state follicular lymphoma: results of the FOLL05 trial conducted by the Fondazione Italiana Linfomi. *J Clin Oncol* 2013;31:1506-13
- Fernández de Larrea C, Martínez-Pozo A, Mercadal S, et al. Initial features and outcome of cutaneous and non-cutaneous primary extra nodal follicular lymphoma. *Br J Haematol* 2011; 153:334-40
- Fisher RI, Leblanc M, Press OW, et al. New treatment options have changed the survival of patients with follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2005;23:8447-52
- Fisher RI, Kaminski MS, Wahl RL et al. Tositumomab and iodine-131 tositumomab produces durable complete remissions in a subset of heavily pretreated patients with low-grade and transformed non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Oncol* 2005;23:7565-73
- Foran JM, Apostolidis J, Papamichael D, et al. High-dose therapy with autologous haematopoietic support in patients with transformed follicular lymphoma: a study of 27 patients from a single centre. *Ann Oncol* 1998;9:865-69

- Forbes SA, Tang G, Bindal N et al. COSMIC (the Catalogue of Somatic Mutations in Cancer): a resource to investigate acquired mutations in human cancer. *Nucleic Acids Res* 2010;38:D652-57
- Forstpointner R, Unterhalt M, Dreyling M, et al. Maintenance therapy with rituximab leads to a significant prolongation of response duration after salvage therapy with a combination of rituximab, fludarabine, cyclophosphamide and mitoxantrone (R-FCM) in patients with recurring and refractory follicular and mantle cell lymphomas: results of a prospective randomized study of the German Low Grade Lymphoma Study Group (GLSG). *Blood* 2006;108:4003-08
- Freedman AS, Ritz J, Neuberg D et al. Autologous bone marrow transplantation in 69 patients with a history of low grade B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1991;77:2524-29
- Freedman D, Tolbert P, Coates R, et al. Relation of cigarette smoking to non-Hodgkin's lymphoma among middle-aged men. *Am J Epidemiol* 1998;148:833-41
- Friedberg JW, Freedman AS. High-dose therapy and stem cell transplantation in follicular lymphoma. *Ann Hematol* 1999;78:203-11
- Friedberg JW, Cohen P, Chen L et al. Bendamustine in patients with rituximab-refractory indolent and transformed non-Hodgkin's lymphoma: results from a phase II multicenter, single-agent study. *J Clin Oncol* 2008;26:204-10
- Fritschi L, Benke G, Hughes A et al. Occupational exposure to pesticides and risk of non-Hodgkin's lymphoma. *Am J Epidemiol* 2005;162:849-57
- Gall EA, Mallory TB. Malignant lymphoma: a clinic-pathologic survey of 618 cases. *Am J Pathol* 1942;18:381-429
- Gallagher CJ, Gregory WM, Jones AE et al. Follicular lymphoma: prognostic factors for response and survival. *J Clin Oncol* 1986;4:1470-80
- Garvin AJ, Simon RM, Osborne CK et al. An autopsy study of histologic progression in non-Hodgkin's lymphomas. 192 cases from the National Cancer Institute. *Cancer* 1983;52:393-98
- Gauwerky CE, Haluska FG, Tsujimoto Y, et al. Evolution of B-cell malignancy: pre-B-cell leukemia resulting from MYC activation in a B-cell neoplasm with a rearranged BCL2 gene: *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85:8548-52
- Gentles AJ, Allizadeh AA, Lee S, et al. A pluripotency signature predicts histological transformation and influences survival in follicular lymphoma patients. *Blood* 2009;114:3158-66
- Gine E, Montoto S, Bosch F et al. The follicular lymphoma International Prognostic Index (FLIPI) and the histological subtype are the most important factors to predict histological transformation in follicular lymphoma. *Ann Oncol*. 2006;17:1539-45
- Gisselbrecht C, Glass B, Mounier N, et al. Salvage regimens with autologous transplantation for relapsed large B-cell lymphoma in the rituximab era. *J Clin Oncol* 2010;28:4184-90

- Gisselbrecht C, Schmitz N, Mounier N, et al. Rituximab maintenance therapy after autologous stem-cell transplantation in patients with relapsed CD20+ diffuse large B-cell lymphoma: final analysis of collaborative trial in relapsed aggressive lymphoma. *J Clin Oncol* 2012;30(36):4462-69
- Glas AM, Dersten J, Delahaye LJ et al. Gene expression profiling in follicular lymphoma to assess clinical aggressiveness and to guide the choice of treatment. *Blood* 2005;105:301-7.
- Glas AM, Knoops L, Delahaye L, et al. Gene-expression and immunohistochemical study of specific T-cell subsets and accessory cell types in the transformation and prognosis of follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2007; 25:290-98
- Gopal AK, Pagel JM, Rajendran JG, et al. Improving the efficacy or reduced intensity allogeneic trasplantation for lymphoma using radioimmunotherapy. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006;12:697-702
- Gopal AK, Rajendran JG, Gooley TA, et al. High-dose [131I]tositumomab (anti-CD20) radioimmunotherapy and autologous hematopoietic stem-cell transplantation for adults > or = 60 years old with relapsed or refractory B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2007;25:1396-402
- Green M, Kihira S, Liu C et al. Mutations in early follicular lymphoma progenitors are associated with suppressed antigen presentation. *Proc Natl Acad Sci* 2015;112:1116-25
- Guirguis HT, Cheung MC, Piliotis E, et al. Survival of patients with transformed lymphoma in the rituximab era. *Ann Hematol* 2014;93:1007-14
- Habermann TM, Weller EA, Morrison VA, et al. Rituximab-CHOP versus CHOP alone or with maintenance rituximab in older patients with diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2006;24(19):3121-27
- Hamadani M, Awan FT, Elder P, et al. Feasibility of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for follicular lymphoma undergoing transformation to diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2008;49:1893-98
- Hamadani M, Benson dM, Hofmeister CC et al. Allogenic stem cell transplantation for patients with relapsed chemorefractory aggressive non-Hodgkin lymphomas. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15:547-53
- Hans SP, Weisenburger DD, Greiner TC et al. Conformation of molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood* 2004;103:275-82
- Haralambieva E, Boerma EJ, van Imhoff GW, et al. Clinical immunophenotypic and genetic analysis of adult lymphomas with morphologic features of Burkitt lymphoma. *Am J Surg Pathol* 2005;29:1652-60
- Hiddemann W, Kneba M, Dreyling M, et al. Frontline therapy wiht rituximab added to the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone (CHOP) significantly improves the outcome for patients with advanced-stage follicular lymphoma compared with

therapy with CHOP alone: results of a prospective randomized study of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. *Blood* 2005;106:3725-32

- Hochster H, Weller E, Gascoyne RD et al. Maintenance rituximab after cyclophosphamide, vincristine and prednisone prolongs progression-free survival in advanced indolent lymphoma: results of the randomized phase III ECOG 1496 Study. *J Clin Oncol* 2009;27:1607-14

- Hodson DJ, Shaffer AL, Xiao W et al. Regulation of normal B-cell differentiation and malignant B-cell survival by OCT2. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016;113:E2039-46

- Horning SJ, Rosenberg SA. The natural history of initially untreated low-grade non-Hodgkin's lymphomas. *N Engl J Med* 1984; 311:1471-75

- Hough RE, Goepel J R, Alcock HE, et al. Copy number gain at 12q12-14 may be important in the transformation from follicular lymphoma to diffuse large B cell lymphoma. *Br J Cancer* 2001;84:499-503

- Hubbard SM, Chabner BA, De Vita VT. Histologic progression in non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1982;59:258-64

- Jackson AE, Liu J, Bartlett NL and Cashen AF. Transformed follicular lymphoma: is early autologous stem cell transplantation indicated in the modern era? *Ann Hematol Oncol* 2014;1:1-5

- Jaffe ES, Raffeld M, Medeiros LJ. Histopathologic subtypes of indolent lymphomas: Caricatures of the mature B-Cell System. *Semin Oncol* 1993;20(supl. 5):3-30

- Kamath SS, Marcus RB, Lynch JW et al. The impact of radiotherapy dose and other treatment related and clinical factors on infield control in stage I and II non-Hodgkin's lymphoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999;44:563-68

- Kaminski MS, Zelenetz AD, Press OW, et al. Pivotal study of iodine I 131 tositumomab for chemotherapy-refractory low-grade or transformed low-grade B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Oncol* 2000;18:1316-23

- Kaminski MS, Tuck M, Estes J, et al. Tositumomab and iodine I-131 tositumomab for previously untreated, advanced-stage, follicular lymphoma: median 10 year follow-up results. *Blood* 2009;114:Abstract 3759

- Kasamon YL, Jones RJ, Gocke CD et al. Extended follow-up of autologous bone marrow transplantation with 4-hydroperoxycyclophosphamide (4-HC) purging for indolent or transformed non-Hodgkin lymphomas. *Bil Blood Marrow Transplat* 2011 ;17 :265-73

- Kasar S, Kim J, Improgo R et al. Whole-genome sequencing reveals activation-induced cytidine deaminase signature during indolent chronic lymphocytic leukaemia evolution. *Nat Commun* 2015;6:8866

- Kiaii S, Clear AJ, Ramsay AG, et al. Follicular lymphoma cells induce changes in T-cell gene expression and function: potential impact on survival and risk of transformation. *J Clin Oncol* 2013;31:2654-61
- Korsmeyer SJ. Bcl-2 initiates a new category of oncogenes: regulators of cell death. *Blood* 1992; 80:879-86
- Kridel R, Sehn LH, Gascoyne RD. Pathogenesis of follicular lymphoma. *J Clin Invest* 2012;122:3424-31
- Kridel R, Chan FC, Mottok A et al. Histological transformation and progression in follicular lymphoma: a clonal evolution study. *PLoS one* 2016;13:e1002197.doi:10.1371
- Krikorian JG, Portlock CS, Cooney P, Rosenberg SA. Spontaneous regression of non-Hodgkin's lymphoma: a report of nine cases. *Cancer* 1980; 46:2093
- Krishnan AY, Raubitschek A, Fung HC, et al. A Comparison of Beam and Yttrium 90 Ibritumomab Tiuxetan (Zevalin®) in Addition to Beam (Z-BEAM) in older patients undergoing autologous cell transplant (ASCT) for B-cell lymphomas: impact of radioimmunotherapy on transplant outcomes. *Blood (ASH annual meeting abstracts)* 2006;108:3043
- Kroll M, Murphy F, Pirie K et al. Million Women Study collaborators. Alcohol drinking, tobacco smoking and subtypes of haematological malignancy in the UK Million Women Study. *Br J Cancer* 2012;107:879-87
- Krouri IF, Saliba RM, Hosing C, et al. Efficacy and safety of Yttrium 90 (Y90) ibritumomab tiuxetan in autologous and nonmyeloablative stem cell transplantation for relapsed non-Hodgkin's lymphoma (NHL). *ASH annual meeting abstracts* 2006;1008:315
- Krysiak K, Gomez F, White BS et al. Recurrent somatic mutations affecting B-cell receptor signaling pathway genes in follicular lymphoma. *Blood* 2016; doi:10.1182
- Kuo HP, Ezell SA, Hsieh S et al. The role of PIM1 in the ibrutinib resistant ABC subtype of diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Cancer Res* 2016;6:2489-2501
- Ladetto M, De Marco F, Benedetti F, et al. Prospective, multicenter randomized GITMO/IIL trial comparing intensive (R-HDS) versus conventional (CHOP-R) chemoimmunotherapy in high-risk follicular lymphoma at diagnosis: the superior disease control of R-HDS does not translate into an overall survival advantage. *Blood* 2008; 111:4004-13
- Laurent C, Muller S, Do C, et al. Distribution, function, and prognostic value of cytotoxic T lymphocytes in follicular lymphoma : a 3-D tissue-imaging study. *Blood* 2011;118:5371-79
- Le Gouill S, Talmant P, Touzeau C, et al. The clinical presentation and prognosis of diffuse large B-cell lymphoma with t(14;18) and 8q24/c-myc rearrangement. *Haematologica* 2007;92:1335-42

- Lee AM, Clear AJ, Claminici M et al. Number of CD 4+ cells and location of forkhead box protein P3-positive cells in diagnostic follicular lymphoma tissue microarrays correlates with outcome. *J Clin Oncol* 2006;24:5052-59
- Leich E, Salaverria I, Bea S, et al. Follicular lymphomas with and without translocation t(14;18) differ in gene expression profiles and genetic alterations. *Blood* 2009; 114:826-34
- Lenz G, Dreyling M, Schiegnitz E, et al. Myeloablative radiochemotherapy followed by autologous stem cell transplantation in first remission prolongs progression-free survival in follicular lymphoma: results of a prospective, randomized trial of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. *Blood* 2004; 104:2667-74
- Lerch K, Meyer AH, Stroux A et al. Impact of prior treatment on outcome of transformed follicular lymphoma and relapsed de novo diffuse large B cell lymphoma: a retrospective multicenter analysis. *Ann Hematol* 2015;94:981-88
- Levi F, La V, Te V et al. Incidence of invasive cancers following basal cell skin cancer. *Am J Epidemiol* 2008;147:722-26
- Li H, Kaminski MS, Li Y et al. Mutations in linker histone genes HIST1H1 B, C, D and E; OCT2 (POU2F2); IRF8; and ARID1A underlying the pathogenesis of follicular lymphoma. *Blood* 2014;123:1487-98
- Limpens J, de Jong D, van Krieken JH, et al. Bcl-2/JH rearrangements in benign lymphoid tissues with follicular hyperplasia. *Oncogene* 1991; 6:2271-76
- Linet M, Vajdic C, Morton L et al. Medical history, lifestyle, family history and occupational risk factors for follicular lymphoma: the InterLymph non-Hodgkin Lymphoma Subtypes Project. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2014;48:26-40
- Link B, Maurer M, Nowakowski G, et al. Rates and outcomes of follicular lymphoma transformation in the immunochemotherapy era: a report from the University of Iowa/Mayo clinic specialized program of research excellence molecular epidemiology resource. *J Clin Oncol* 2013;31:3272-78
- Liu Y, Hernandez AM, Shibata D et al. BCL2 translocation frequency rises with age in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:8910-14
- Liu X, Zhang L, Ruan M et al. Significance of PAX5 deletion in childhood B-lineage acute lymphoblastic leukemia without reproducible chromosomal abnormalities. *Zhong Dang Dai*. 2016; 18:287-91
- Lo Coco F, Gaidano G, Louie DC, Offit K, et al. p53 mutations are associated with histologic transformation of follicular lymphoma. *Blood* 1993;82:2289-95
- López- Lázaro M. The Warburg effect: why and how do cancer cells activate glycolysis in the presence of oxygen? *Anticancer Agents Med Chem* 2008; 8:305-12

- Lorsbach RB, Shay-Seymore D, Moore J, et al. Clinicopathologic analysis of follicular lymphoma occurring in children. *Blood* 2002; 99:1959-64
- Lossos IS and Levy R. Higher-grade transformation of follicle center lymphoma is associated with somatic mutation of the 5' noncoding regulatory region of the BCL-6 gene. *Blood* 2000;96:635-39
- Lossos IS, Alizadeh AA, Diehn M, et al. Transformation of follicular lymphoma to diffuse large-cell lymphoma: alternative patterns with increased or decreased expression of c-myc and its regulated genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:8886-91
- Lossos IS, Levy R. Higher grade transformation of follicular lymphoma: phenotypic tumor progression associated with diverse genetic lesions. *Semin Cancer Biol* 2003;13:191-202
- Lossos IS. Higher-grade transformation of follicular lymphoma a continuous enigma. *Leukemia* 2005;19:1331-33
- Lossos IS, Gascoyne RD. Transformation of follicular lymphoma. *Best Pract Res Clin Haematol* 2011;24:135-46
- Louissaint A Jr, Ackerman AM, Dias-Santagata D, et al. Pediatric-type nodal follicular lymphoma: an indolent clonal proliferation in children and adults with high proliferation index and no BCL2 rearrangement. *Blood* 2012; 120:2395-404
- Lunning M and Green M. Mutation of chromatin modifiers; an emerging hallmark of germinal center B-cell lymphomas. *Blood Cancer J* 2015;5:e361
- Madsen C, Pedersen MB, Vase M, et al. Outcome determinants for trasnformed indolent lymphomas treated with or without autologous stem-cell transplantation. *Ann Oncol* 2015;26:393-99
- Maeshima AM, Omatsu M, Nomoto J, et al. Diffuse large B-cell lymphoma after transformation from low-grade follicular lymphoma: morphological, immunohistochemical, and FISH analyses. *Cancer Sci.* 2008; 99:1760-68
- Mann RS, Berard CW. Criteria for the cytologic subclassification of follicular lymphomas: a proposed alternative method. *Hematol Oncol* 1983;1:187-92
- Marcus R, Imrie K, Solal-Celigny P, et al. Phase III study of R-CVP compared with cyclophosphamide, vincristine and prednisone alone in patients with previously untreated advanced follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2008;26:4579-86
- Mareschal S, Dubois S, Vailly PJ et al. Whole exome sequencing of relapse/refractory patients expands the repertoire of somatic mutations in diffuse large B-cell lymphoma. *Genes Chormosomes Cancer* 2016;55:251-67
- Martin AR, Weisenburger DD, Chan WC, et al. Prognostic value of cellular proliferation and histologic grade in follicular lymphoma. *Blood* 1995; 85:3671-8

- Martínez-Climent JA, Alizadeh A, Seagraves R, et al. Transformation of follicular lymphoma to diffuse large cell lymphoma is associated with a heterogeneous set of DNA copy number and gene expression alterations. *Blood* 2003;101:3109-17
- Matolcsy A, Casali P, Warnke RA et al. Morphologic transformation of follicular lymphoma is associated with somatic mutation of the translocated Bcl-2 gene. *Blood* 1996;88:3937-44
- McLaughlin P, Fuller L, Redman J, et al. Stage I-II low-grade lymphomas: a prospective trial of combination chemotherapy and radiotherapy. *Ann Oncol* 1991;2 Suppl 2:137-40
- Mei M, Wondergem J, Palmer J, et al. Autologous transplantation for transformed non-Hodgkin lymphoma using an Yttrium-90 Ibritumomab Tiuxetan conditioning regimen. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014;20:2056-75
- Mondello P, Steiner N, Willenbacher W et al. Bendamustine plus rituximab versus R-CHOP as first line treatment for patients with indolent non-Hodgkin's lymphoma: evidence from a multicenter, retrospective study. *Ann Hematol* 2016;95:1107-14
- Montoto S, Davies AJ, Matthews J, et al. Risk and clinical implications of transformation of follicular lymphoma to diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2007;25:2426-33
- Morin RD, Méndez-Lago M, Mungall A et al. Frequent mutation of histone modifying genes in non-Hodgkin lymphoma. *Nature* 2012;476:298-303
- Morin RD, Mungall K, Pleasance E et al. Mutational and structural analysis of diffuse large B-cell lymphoma using whole-genome sequencing. *Blood* 2013;122:1256-65
- Morton LM, Hartge P, Hodfor T et al. Cigarette smoking and risk of non-Hodgkin lymphoma: a pooled analysis from the International Lymphoma Epidemiology Consortium (interlymph). *Cancer Epidemiol biomarkers Prev* 2005;14:925-33
- Morton LM, Wang SS, Devesa SS, et al. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. *Blood* 2006; 107:265-76
- Morton LM, Purdue M, Zheng T et al. Risk of non-Hodgkin lymphoma associated with germline variation in genes that regulate the cell cycle, apoptosis and lymphocyte development. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18:1259-70
- Mozessohn L, Cheung M et al. Chemoimmunotherapy resistant follicular lymphoma: predictors of resistance, association with transformation and prognosis. *Leuk and Lymphoma* 2014;55:2502-7
- Nabhan C, Aschebrook B, Chiu B et al. The impact of race, age and sex in follicular lymphoma: a comprehensive SEER analysis across consecutive treatment eras. *Am J Hematol* 2014;89:633-38
- Nastoupil L, Sinha R, Byrtek M, et al. A comparison of the effectiveness of first-line chemoimmunotherapy regimens for follicular lymphoma (FL) used in the United States. *Blood* 2011;118:Abstract 97

- Ning Y, Foss A, Kimball AS et al. Characterization of a case of follicular lymphoma transformed into B-lymphoblastic leukemia. *Mol Cytogen* 2013;6:34-40
- Novak AJ, Asmann YW, Maurer MJ et al. Whole exome analysis reveals novel somatic genomic alterations associated with outcome immunotherapy-treated diffuse large B-cell lymphoma. *Blood Cancer J* 2015;28:e346
- Novelli S, Briones J, Flotats A, et al. PET/CT Assessment of follicular lymphoma and high grade B cell lymphoma-good correlation with clinical and histological features at diagnosis. *Adv Clin Exp Med* 2015;24:325-30
- Nowakowski G and Ansell S. Therapeutic targeting of microenvironment in follicular lymphoma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* (2014)
- Noy A, Schoder H, Gonen M et al. The majority of transformed lymphomas have high standardized uptake values (SUV) on positron emission tomography (PET) scanning similar to diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). *Ann Oncol* 2009;20:508-12
- Nuñez G, Hockenbery D, McDonnell TJ, et al. Bcl-2 maintains B cell memory. *Nature* 1991; 353:71-3
- O'Shea D, Riain CO, Gupta M, et al. Regions of acquired uniparental disomy at diagnosis of follicular lymphoma are associated with both overall survival and risk of transformation. *Blood* 2009;113:2298-301
- Ogura M, Ando K, Taniwaki M et al. Feasibility and pharmacokinetic study of bendamustine hydrochloride in combination with rituximab in relapsed or refractory aggressive B cell non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Sci* 2011;102:1687-92
- Okosun J, Bodor C, Wang J, et al. Integrated genomic analysis identifies recurrent mutations and evolution patterns driving the initiation and progression of follicular lymphoma. *Nature* 2014;46:176-81
- Okosun J, Montoto S and Jude Fitzgibbon. The routes for transformation of follicular lymphoma. *Curr Opin Hematol* 2016;23:385-91
- Olejniczak SH, Hernandez-Ilizaliturri F, Clements J et al. Acquired resistance resulting from decreased Bax and Bak expression. *Clin Cancer Res* 2008;14:1550-60
- Ortega-Molina A, Boss I, Canela A et al. The histone lysine methyltransferase KMT2D sustains a gene expression program that represses B cell lymphoma development. *Nat Med* 2015;10:1199-208
- Ostrow SS, Diggs CH, Sutherland JC et al. Nodular poorly differentiated lymphocytic lymphoma: changes in histology and survival. *Cancer Treat Rep* 1981;65:929-33

- Oviatt DL, Cousar JB, Collins RD et al. Malignant lymphomas of follicular center cell origin in humans. Incidence, clinical features and prognostic implications of transformation of small cleaved cell nodular lymphoma. *Cancer* 1984;53:1109-14
- Pasini D, Malatesta M, Jung H. Characterization of an antagonistic switch between histone H2 lysine 27 methylation and acetylation in the transcriptional regulation of Polycomb group target genes. *Nucleic Acids Res* 2010;38:4958-69
- Pasqualucci L, Dominguez-Sola D, Chiarenza A et al. Inactivating mutations of acetyltransferase genes in B-cell lymphoma. *Nature* 2011;471:189-95
- Pasqualucci L, Khiabanian H, Fangazio M et al. Genetics of Follicular lymphoma transformation. *Cell* 2014;6:130-40
- Pastore A, Jurinovic V, Kridel R et al. Integration of gene mutations in risk prognostication for patients receiving first-line immunochemotherapy for follicular lymphoma: a retrospective analysis of a prospective clinical trial and validation in a population-based registry. *Lancet Oncol* 2015;16:1111-22
- Pedersen MO, Gang AO, Poulsen TS et al. Double-hit BCL2/MYC translocations in a consecutive cohort of patients with large B-cell lymphoma- a single centre's experience. *Eur J Haematol* 2012;89:63-71
- Perry C, Lerman H, Joffe E et al. The value of PET-TC in detecting bone marrow involvement in patients with follicular lymphoma. *Medicine* 2016;95:1-7
- Peruzzo P, Comelli M, Di Giorgio E et al. Transformation by different oncogenes relies on specific metabolic adaptations. *Cell Cycle* 2016;15:2656-68
- Press OW, Eary JF, Appelbaum FR, et al. Radiolabeled-antibody therapy of B-cell lymphoma with autologous bone marrow support. *N Engl J Med* 1993;329:1219-24
- Provencio M, Sabin P, Gómez Codina J, et al. Are there any significant variations in the clinical or histological presentation of lymphoid pathologies over the course of time in Spain? *Clin Transl Oncol* 2012;14:386-90
- Provencio M, Alfaro J, de la Cruz L, et al. SEOM clinical guidelines for the treatment of follicular non-Hodgkin's lymphoma. *Clin Transl Oncol* 2015;17:1014-19
- Qazi R, Aisenberg AC, Long JC. The natural history of nodular lymphoma. *Cancer* 1976;37:1923-7
- Raghavan SC, Swanson PC, Wu X et al. A non-B-DNA structure at the BCL-2 major break-point region is cleaved by the RAG complex. *Nature* 2004;428:88-93
- Ramadan KM, Connors JM, Al-Tourah et al. Allogenic SCT for relapsed composite and transformed lymphoma using related and unrelated donors: long-term results. *Bone Marrow Transplan* 2008;42:601-8

- Ramadan KM, Connors JM, Al-Tourah AJ, et al. Autologous stem cell transplantation is superior to myeloablative allogeneic SCT as salvage therapy for patients with refractory/relapsed transformed lymphoma. *Blood* 2008;112:4459
- Reddy N, Oluwole O, Greer JP et al. Superior long-term outcome of patients with early transformation of non-Hodgkin lymphoma undergoing stem cell transplantation. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2012;12:406-11
- Relander T, Johnson NA, Farinha P, et al. Prognostic factors in follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2010; 28:2902-13
- Rendleman J, Antipin Y, Reva B et al. Genetic variation in DNA repair pathways and risk of non-Hodgkin's lymphoma. *PLOS one* 2014;9:e101685
- Revzani AR, Storer B, Maris M, et al. Non-myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation in relapsed, refractory and transformed indolent non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2008;26:211-7
- Risdall R, Hoppe RT, Warnke R. Non-Hodgkin's lymphoma: a study of the evolution of the disease based upon 92 autopsied cases. *Cancer* 1979;44:529-42
- Roulland S, Navarro JM, Grenot P, et al. Follicular lymphoma-like B cells in healthy individuals: a novel intermediate step in early lymphomagenesis. *J Exp Med* 2006; 203:2425-31
- Rubio J, Franco F, Sánchez A et al. Does the presence of hepatitis virus B and C influence the evolution of diffuse large B-cell lymphoma? *Leuk Lymphoma* 2015;56:1686-90
- Ruminy P, Jardin F, Picquenot JM et al. S(mu) mutation patterns suggest different progression pathways in follicular lymphoma: early direct or late from FL progenitor cells. *Blood* 2008;112:1951-9
- Rummel MJ, Niederle N, Maschmeyer G et al. Bendamustine plus rituximab is superior in respect of progression free survival and CR rate when compared to CHOP Plus rituximab as first-line treatment of patients with advanced follicular, indolent, and mantle cell lymphomas: final results of a randomized phase III study of the StiL (Study Group Indolent Lymphomas, Germany). *Blood* 2009; 114:168 (abstr 405)
- Rummel MJ, Niederle N, Maschmeyer G et al. Bendamustine plus rituximab versus CHOP plus rituximab as first-line treatment for patients with indolent and mantle-cell lymphomas: an open-label, multicentre, randomised, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet* 2013;381:1203-10
- Sabloff M, Atkins HS, Bence-Bruckler I, et al. A 15-year analysis of early and late autologous hematopoietic stem cell transplant in relapsed, aggressive, transformed and nontransformed follicular lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007;13:956-64
- Salles G, Seymour JF, Offner F, et al. Rituximab maintenance for 2 years in patients with high tumour burden follicular lymphoma responding to rituximab plus chemotherapy (PRIMA): a phase 3, randomised controlled trial. *Lancet* 2011; 377:42

- Sánchez-González B, García M, Serrano S, et al. Bendamustine-containing immunochemotherapy is active in transformed follicular lymphoma with overexpression of p53. *Leuk and Lymphoma* 2009;50:455-6
- Sander CA, Yano T, Clark HM et al. p53 mutation is associated with progression in follicular lymphomas. *Blood* 1993;82:1994-04
- Sant M, Allemani C, Tereanu C, et al. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood* 2010; 116:3724-34
- Sarkozy C, Trneny M, Xerri L et al. Risk factors and outcomes for patients with follicular lymphoma who had histologic transformation after response to first line immunochemotherapy in the PRIMA trial. *J Clin Oncol* 2016;34:2575-82
- Scherer F, Navarrete M, Bertinetti-Lapatki et al. Isotype-switched follicular lymphoma displays dissociation between activation-induced cytidine deaminase expression and somatic hypermutation. *Leuk Lymphoma* 2016;57:151-60
- Schmieder A, Michel J, Schonhaar K, et al. Differentiation and gene expression profile of tumor-associated macrophages. *Semin Cancer Biol* 2012;22:289-97
- Schoder H, Meta J, Yap C et al. Effect of whole-body (18)F-FDG PET imaging on clinical staging and management of patients with malignant lymphoma. *J Nucl Med* 2001;42:1139-43
- Schoder H, Noy A, Gonen M et al. Intensity of 18fluorodeoxyglucose uptake in positron emission tomography distinguishes between indolent and aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2005;23:4643-51
- Schouten HC, Bierman PJ, Vaughan WP, et al. Autologous bone marrow transplantation in follicular non-Hodgkin's lymphoma before and after histologic transformation. *Blood* 1989;74:2579-84
- Schraders M, de Jong D, Kluin P, et al. Lack of Bcl-2 expression in follicular lymphoma may be caused by mutations in the BCL2 gene or by absence of the t(14;18) translocation. *J Pathol* 2005; 205:329-35
- Sebban C, Mounier N, Brousse N, et al. Standard chemotherapy with interferon compared with CHOP followed by high-dose therapy with autologous stem cell transplantation in untreated patients with advanced follicular lymphoma: the GELF-94 randomized study from the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte (GELA). *Blood* 2006; 108:2540-4
- Seider A, Becker N, Nieters A et al. Asbestos exposure and malignant lymphoma: a multicenter case-control study in Germany and Italy. *Int Arch Occup Environ Health* 2010;83:563-70
- Shiels M, Engels E, Linet M et al. The epidemic of non-Hodgkin lymphoma in the United States: disentangling the effect of HIV 1992-2009. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013;22:1069-78

- Smith SD, Bolwell BJ, Advani AS, et al. High rate of survival in transformed lymphoma after autologous stem cell transplant: pathologic analysis and comparison with de novo diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2009;50:1625-31
- Solal-Céligny P, Roy P, Colombat P et al. Follicular lymphoma international prognostic index. *Blood* 2004;104:1258-65
- Solal-Céligny P, Bellei M, Marcheselli L et al. Watchful waiting in low-tumor burden follicular lymphoma in the rituximab era: results of an F2-study database. *J Clin Oncol*. 2012;30:3848-53
- Soubeyran P, Eghbali H, Bonichon F et al. Low-grade follicular lymphomas: analysis of prognosis in a series of 281 patients. *Eur J Cancer* 1991;27:1606-13
- Stein H, Gerdes J, Mason DY. The normal and malignant germinal centre. *Clin Haematol* 1982;11:531-59
- Swenson WT, Wooldridge JE, Lynch CF et al. Improved survival of follicular lymphoma patients in United States. *J Clin Oncol* 2005;23:5019-26
- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2008
- Tadorelli M, Polesel J, Montella M et al. Hepatitis B and C viruses and risk of non-Hodgkin lymphoma: a case-control study in Italy. *Infect Agent Cancer* 2016;11:27
- Tam CS, Herschtal A, Dickinson M, et al. Chemotherapy versus autologous stem-cell transplantation for the treatment of transformed follicular lymphoma in the rituximab era. *J Clin Oncol* 2013;31:3166-67
- Tan D, Rosenberg SA, Levy R, et al. Survival in follicular lymphoma : the Stanford experience, 1960-2003. *Blood* 2007;110: abstr 3428
- Tees MT and Flinn IW. Chronic lymphocytic leukemia and small lymphocytic lymphoma: two faces of the same disease. *Expert Rev Hematol*. 2016 Dec 26;1-10. doi: 10.1080/17474086.2017.1270203. [Epub ahead of print]
- The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997; 89:3909.
- Thomson KJ, Morris EC, Bloor A, et al. Favorable long-term survival after reduced-intensity allogeneic transplantation for multiple-relapsed aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2009;27:426-32
- Trotman J, Luminari S, Boussetta S et al. Prognostic value of PET/TC alter frontline therapy in follicular lymphoma: a pooled analisis of central review in three multicenter Studies: *J Clin Oncol* 32:5s;2014 (suppl;abstr 8502)
- Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J et al. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14;18) chromosome translocation. *Science* 1984;226:1097-99

- Tzankov A, Meier C, Hirschmann P, et al. Correlation of high numbers of intratumoral FOXP3+ regulatory T cells with improved survival in germinal center-like diffuse large B-cell lymphoma, follicular lymphoma and classical Hodgkin's lymphoma. *Haematologica* 2008;93;193-200
- Vajdik C, van Leeuwen M, Turner J et al. No excess risk of follicular lymphoma in kidney transplant and HIV-related immunodeficiency. *Int J Cancer* 2010;127:2732-35
- Van der Schans SA, Steyerberg EW, Nijziel MR et al. Validation, revision and extension of the Follicular lymphoma International Prognostic Index (FLIPI) in a population-based setting. *Ann Oncol* 2009;20:1697-702
- Van Oers MH, Klasa R, Marcus RE, et al. Rituximab maintenance improves clinical outcome of relapsed/resistant follicular non-Hodgkin lymphoma in patients both with and without rituximab during induction: results of a prospective randomized phase 3 intergroup trial. *Blood* 2006;108:3295-301
- Van Oers MH, Van Glabbeke M, Giurgea L, et al. Rituximab maintenance treatment of relapsed/resistant follicular non-Hodgkin's lymphoma: long-term outcome of the EORTC 20981 phase III randomized intergroup study. *J Clin Oncol* 2010;28:2853-58
- Vater I, Montesinos-Rongen M, Schlesner M et al. The mutational pattern of primary lymphoma of the central nervous system determined by whole-exome sequencing. *Leukemia* 2015;29:677-85
- Villa D, Crump M, Panzarella T et al. Autologous and Allogenic stem-cell transplantation for transformed follicular lymphoma: a report of the Canadian Blood and Marrow Transplant Group. *J Clin Oncol* 2013;31:1164-71
- Villa D, George A, Seymour J, et al. Favourable outcomes from allogenic and autologous stem cell transplantation for patients with transformed nonfollicular indolent lymphoma. *Biol of Blood Marrow Trasplan* 2014;20:1813-18
- Vose JM, Wahl RL, Saleh M et al. Multicenter phase II study of iodine-131 tositumomab for chemotherapy-relapsed/refractory low-grade and transformed low-grade B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Oncol* 2000;18:1316-23
- Vose JM, Bierman PJ, Enke C, et al. Phase I trial of iodine-131 tositumomab with high-dose chemotherapy and autologous stem-cell transplantation for relapsed non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2005;23:461-67
- Wagner-Johston N, Link B, Byrtek M, et al. Outcomes of transformed follicular lymphoma in the modern era: a report from the National LymphoCare Study (NLCS). *Blood* 2015;126:851-57
- Wang M, Fowler N, Wagner-Bartak N et al. Oral lenalidomide with rituximab in relapsed or refractory diffuse large cell, follicular and transformed lymphoma: a phase II clinical trial. *Leukemia* 2013;27:1902-09
- Warburg O. On the origin of cancer cells. *Science* 1956;24:309-14

- Weigert O, Kopp N, Lane A et al. Molecular ontogeny of donor-derived follicular lymphomas occurring after hematopoietic cell transplantation. *Cancer Discov* 2012;2:47-55
- Wiernik PH, Lossos IS, Tuscanos JM et al. Lenalidomide monotherapy in relapsed or refractory aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2008;26:4952-57
- Wilder RB, Jones D, Tucker SL et al. Long term results with radiotherapy for Stage I-II follicular lymphomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001;51:1219-27
- Williams CD, Harrison CN, Lister TA et al. High-dose therapy and autologous stem-cell support for chemosensitive transformed low-grade follicular non-Hodgkin's lymphoma: a case-matched study from the European Bone Marrow Transplant Registry. *J Clin Oncol* 2001;19:727-35
- Winter JM, Inwards MD, Stewart MD, et al. 90Y Ibritumomab Tiuxetan (Zevalin®; 90YZ) doses calculated to deliver up to 1500 cGy to critical organs may be safely combined with high-dose BEAM and autotransplant in NHL. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2006;108:2006.Abstract 330
- Wirk B, Fenske TS, Hamadani M et al. Outcomes of hematopoietic cell transplantation for diffuse large B cell lymphoma transformed from follicular lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplan* 2014;20:951-59
- Witzig TE, Flinn IW, Gordon LI, et al. Treatment with ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy in patients with rituximab-refractory follicular non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2002;20:3262-69
- Wondergem MJ, Rizvi S, Jauw Y, et al. 18F-FDG or 3'-deoxy-3'-18F-Fluorotymidine to detect transformation of follicular lymphoma. *J Nucl Med* 2015;56:216-21
- Wu D, Wood BL, Dorer R. "Doble hit" mature B-cell lymphomas show a common immunophenotype by flow cytometry that includes decreased CD20 expression. *Am J Clin Pathol*. 2010;134:258-65
- Wu L, Adams M, Carter T et al. Lenalidomida enhances natural killer cell and monocyte-mediated antibody-dependent cellular cytotoxicity of rituximab-treated CD20+ tumor cells. *Clin Cancer Res* 2008;14:4650-57
- Xu X, Zhang L, Wang Y et al. Double-hit and triple hit lymphomas arising from follicular lymphoma following acquisition of MYC: report of two cases and literature review. *Int J Clin Exp Pathol* 2013;6:788-94
- Yang Z, Ansell SM. The tumour microenvironment in follicular lymphoma. *Clin Adv in Hematol and Oncol* 2012;10:810-18
- Yano T, Jaffe ES, Longo DL and Raffeld M. MYC rearrangements in histologically progressed follicular lymphomas. *Blood* 1992;80:758-67

- Yuda S, Maruyama D, Miyagi A et al. Influence of the watch and wait strategy on clinical outcomes of patients with follicular lymphoma in the rituximab era. *Ann Hematol* 2016;95:2017-22
- Yuen AR, Kamel OW, Halpern J, et al. Long term survival after histologic transformation of low-grade follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 1995;13:1726-33
- Zelenetz A, Saleh M, Vose J et al. Patients with transformed low grade lymphoma attain durable responses following outpatient radioimmunotherapy with tositumomab and iodine I 131 tositumumab (Bexxar). *Blood* 2002;100
- Zhang J, Grubor V, Love CL et al. Genetic heterogeneity of diffuse large B-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013;110:1398-403
- Zhang MM, Gopal AK. Radioimmunotherapy-based conditioning regimens for stem-cell transplantation. *Sem Hematol* 2008;45:118-25
- Zhang X, Shi Y, Weng Y et al. The truncate mutation of Notch 2 enhances cell proliferation through activating the NF-KB signal pathway in the diffuse large B-cell lymphomas. *PLOS one* 2014;9:e108747
- Zinkel S, Gross A, Yang E et al. BCL2 family in DNA damage and cell cycle control. *Cell Death Differ* 2006; 13:1351-58

ANEXO I: CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS INICIALES

IDs

Código identificativo del paciente

Fecha de nacimiento

Fecha de diagnóstico de linfoma folicular

Fecha de diagnóstico de la transformación

Centro referencia

- ☐ Complejo Hospitalario de Pontevedra
☐ Fundación Hospital Alcorcón
☐ Fundación Jiménez Díaz
☐ Hospital 12 de Octubre
☐ Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa
☐ Hospital de Gran Canaria Dr. Negrín
☐ Hospital de N^o Sra. de la Candelaria
☐ Hospital General de Elche
☐ Hospital General Juan Ramón Jiménez
☐ Hospital General Universitario de Alicante
☐ Hospital General Universitario de Elche
☐ Hospital General Universitario de Valencia
☐ Hospital General Universitario Gregorio Marañón
☐ Hospital Insular
☐ Hospital Ramón y Cajal
☐ Hospital Río Carrion
☐ Hospital San Millán San Pedro
☐ Hospital Son Dureta
☐ Hospital Universitario de Canarias
☐ Hospital Universitario de Getafe
☐ Hospital Universitario La Fe de Valencia
☐ Hospital Universitario Marqués de Valdecill
☐ Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda
☐ Hospital Universitario San Joan de Reus
☐ Hospital Universitario Virgen de la Victoria
☐ Hospital Universitario Virgen de las Nieves
☐ Hospital Virgen de la Macarena
☐ Hospital Virgen de la Salud
☐ Hospital Virgen del Rocío
☐ I.V.O.
☐ MD Anderson Cancer Center

Fecha de última revisión

Estado del paciente

- ☐ Fallecido
☐ Vivo con enfermedad
☐ Vivo sin enfermedad

Datos epidemiológicos

Sexo

- ☐ Mujer
☐ Varón

Aspectos exposicionales tóxicos

- ☐ No
☐ Sí

Tipo de aspecto exposicional tóxico

- ☐ Alcohol
☐ Drogas
☐ Tabaco

16/01/2017 11:15

www.projectredcap.org



Aspectos exposicionales profesionales	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí
Tipo de aspecto tóxico profesional	<input type="checkbox"/> Asbestos <input type="checkbox"/> PVC <input type="checkbox"/> Radón <input type="checkbox"/> Otros
Otros aspectos tóxicos profesionales	_____

Antecedentes personales

Infecciones	<input type="checkbox"/> EBV <input type="checkbox"/> VIH <input type="checkbox"/> VHC <input type="checkbox"/> VHB <input type="checkbox"/> Otra
Otra infección	_____
Antecedentes oncológicos previos	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí
Tipo de antecedente oncológico previo	<input type="checkbox"/> Cabeza y cuello <input type="checkbox"/> Cérvix <input type="checkbox"/> Colon y recto <input type="checkbox"/> Encéfalo y Sistema Nervioso <input type="checkbox"/> Endometrio <input type="checkbox"/> Esófago <input type="checkbox"/> Estómago <input type="checkbox"/> Germinal <input type="checkbox"/> Hígado <input type="checkbox"/> Intestino delgado <input type="checkbox"/> Leucemia <input type="checkbox"/> Mama <input type="checkbox"/> Melanoma <input type="checkbox"/> Mieloma múltiple <input type="checkbox"/> Ovario <input type="checkbox"/> Páncreas <input type="checkbox"/> Próstata <input type="checkbox"/> Pulmón <input type="checkbox"/> Riñón <input type="checkbox"/> Sarcoma <input type="checkbox"/> Tiroides <input type="checkbox"/> Vejiga <input type="checkbox"/> Otros
Otro antecedente oncológico previo	_____

DIAGNÓSTICO

Estadio	<input type="radio"/> IA <input type="radio"/> IB <input type="radio"/> IIA <input type="radio"/> IIB <input type="radio"/> IIIA <input type="radio"/> IIIB <input type="radio"/> IVA <input type="radio"/> IVB
Síntomas B	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí

16/01/2017 11:15

www.projectredcap.org



Masa Bulky	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí
Afectación visceral	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí
Tipo de afectación visceral	_____
Afectación de médula ósea	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí
Hemoglobina	<input type="radio"/> < 12 <input type="radio"/> >12
LDH	<input type="radio"/> Aumentada <input type="radio"/> Normal
Valor de LDH aumentada	_____
ECOG	<input type="radio"/> 0 <input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4
Beta 2 globulina	<input type="radio"/> Aumentada <input type="radio"/> Normal
Valor de beta 2 globulina aumentada	_____

Page 1 of 7

Tratamiento

IDs

Código identificativo del paciente	_____
Esperar y ver	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí (watch and wait)

TRATAMIENTO

Tratamiento	<input type="checkbox"/> QT <input type="checkbox"/> Radioinmunoconjugados <input type="checkbox"/> Rituximab de mantenimiento <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> Trasplante
Nº líneas de QT	<input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5

Primera línea de QT

Fecha de inicio de línea 1	_____
Esquema QT línea 1	<input type="radio"/> Bendamustina <input type="radio"/> CHOP <input type="radio"/> CVP <input type="radio"/> DHAP <input type="radio"/> ESHAP <input type="radio"/> FMD <input type="radio"/> Fludarabina <input type="radio"/> Gemox <input type="radio"/> ICE <input type="radio"/> R-Bendamustina <input type="radio"/> R-CHOP <input type="radio"/> R-CVP <input type="radio"/> R-DHAP <input type="radio"/> R-ESHAP <input type="radio"/> R-FMD <input type="radio"/> R-Fludarabina <input type="radio"/> R-Gemox <input type="radio"/> R-ICE <input type="radio"/> Otro esquema
Otro esquema QT	_____
Toxicidad línea 1	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí

Tipo toxicidad línea 1

- ☐ Neutropenia
- ☐ Neutropenia febril
- ☐ Anemia-trombopenia
- ☐ Neurotoxicidad
- ☐ Nefrotoxicidad
- ☐ Hepatotoxicidad
- ☐ Mucositis
- ☐ Emesis
- ☐ Astenia
- ☐ Neumonitis
- ☐ Obstrucción intestinal
- ☐ Otra toxicidad

Otra toxicidad línea 1

Nº ciclos línea 1

- ☐ 1
- ☐ 2
- ☐ 3
- ☐ 4
- ☐ 5
- ☐ 6
- ☐ Otro número de ciclos

Otro número de ciclos 1

Fecha fin línea 1

Respuesta línea 1

- ☐ Completa
- ☐ Estable
- ☐ Parcial
- ☐ Progresión

RADIOINMUNOCONJUGADOS

Fecha de tratamiento radioinmunoconjugados

RITUXIMAB DE MANTENIMIENTO

Fecha de inicio de Rituximab de mantenimiento

Fecha de fin de Rituximab de mantenimiento

RADIOTERAPIA

Fecha de inicio RT

Fecha de fin RT

Dosis

Campo radiado

TRASPLANTE

Tipo de trasplante

- ☐ Autólogo
- ☐ Alogénico

Fecha de trasplante autólogo

Acondicionamiento de trasplante autólogo

Purga de trasplante autólogo

- ☐ No
- ☐ Sí

Fecha de trasplante alogénico

Acondicionamiento de trasplante alogénico

Purga de trasplante alogénico

- ☐ No
- ☐ Sí

ANEXO II: CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS TRAS TRANSFORMACIÓN

Transformación

Page 1 of 1

IDs

Código identificativo del paciente	_____
Transformación	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí
Forma de debut de la transformación	<input type="radio"/> Revisión normal <input type="radio"/> Síntomas nuevos
Síntomas nuevos	_____
Estadio	(especificar) <input type="radio"/> IA <input type="radio"/> IB <input type="radio"/> IIA <input type="radio"/> IIB <input type="radio"/> IIIA <input type="radio"/> IIIB <input type="radio"/> IVA <input type="radio"/> IVB
Síntomas B	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí
Masa Bulky	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí
Afectación visceral en la transformación	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí
Tipo de afectación visceral en la transformación	_____
Hemoglobina	<input type="radio"/> >12 <input type="radio"/> < 12
LDH	<input type="radio"/> Aumentada <input type="radio"/> Normal
Valor de LDH aumentada	_____
ECOG	<input type="radio"/> 0 <input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4
Beta 2 globulina	<input type="radio"/> Aumentada <input type="radio"/> Normal
Valor beta 2 globulina aumentada	_____
Afectación de médula ósea	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí

ANEXO IV: CONSENTIMIENTO INFORMADO

Información al Paciente para su Participación en el proyecto con estudio genético:

“Estudio clínico y de los mecanismos moleculares implicados en el desarrollo del linfoma folicular transformado”

Nos dirigimos a usted para informarle de un proyecto de investigación en el que se le invita a participar. El presente documento tiene la finalidad de que reciba la información necesaria para que decida si desea participar o no. Para ello, le solicitamos que lo lea con detenimiento, que se tome el tiempo necesario e incluso que lo consulte con las personas que desee.

Su participación es voluntaria, y debe saber que si interviene en el estudio podrá revocar su consentimiento en cualquier momento y sin tener que dar explicaciones.

Una vez que haya leído esta hoja informativa el investigador aclarará todas las dudas que puedan surgir.

Objetivo del proyecto

Mediante este proyecto nos proponemos conocer el número de casos de linfoma folicular que sufren transformación en linfomas más agresivos.

El Linfoma Folicular (LF) constituye cerca del 20% de los linfomas diagnosticados en la población occidental. Un acontecimiento fundamental en el transcurso de la enfermedad es su transformación a linfomas más agresivos. La incidencia de transformación es muy variable según los diferentes estudios, de un 15 hasta un 60%. Actualmente no contamos con datos clínicos, patológicos, ni moleculares en el momento del diagnóstico que nos permitan identificar a los pacientes que en un futuro padecerán dicha transformación. Por esto, nuestro objetivo es conocer la incidencia real del LF transformado en nuestro entorno identificando las alteraciones moleculares subyacentes que permitan establecer nuevos criterios pronósticos, clínicos y terapéuticos.

La realización de pruebas y test en muestras de tejidos de pacientes que han sufrido esta transformación a linfomas más agresivos y su integración con los datos clínicos, ayudarán a comprender la biología de los LF y, principalmente a la identificar los pacientes con riesgo de transformación permitiendo mejores abordajes terapéuticos.

Para ello se procederá a tomarle una muestra de mucosa bucal, mediante enjuague bucal; o se pedirá su permiso para usar tejido sobrante de las biopsias que se le hayan realizado previamente

durante su diagnóstico. A continuación se realizará un estudio genético de estos tejidos, y se estudiarán los resultados junto con los datos clínicos asociados a los mismos.

¿Qué es un estudio genético?

Es un procedimiento de laboratorio destinado a detectar cambios genéticos. En el estudio que se realizará durante el presente proyecto de investigación incluirá la detección de posibles mutaciones (presencia, ausencia o variantes de uno o varios segmentos de su material genético). Se prevé que su duración se prolongue durante tres años.

Por tanto, con su consentimiento accede a la donación de muestras de tejido que permita a los investigadores estudiar posibles avances en el conocimiento del linfoma, tanto en su aparición, evolución como posibles tratamientos.

La donación de tejido/ sangre y sus datos asociados es totalmente voluntaria, por lo que si Ud. da el consentimiento para su uso, en cualquier momento posterior puede revocarlo. En caso de producirse esta revocación, ello no supondrá ningún cambio en la relación que usted mantuviera con su médico ni perjuicio alguno en su diagnóstico /tratamiento y/o seguimiento de sus enfermedades. Producida la revocación, su muestra dejará de formar parte de la investigación aunque los datos obtenidos hasta ese momento sí formarán parte de la misma.

Finalidad y descripción del proceso

Este documento tiene como objeto, conforme regula la Ley 14/2007, de 13 de diciembre, de Investigación Biomédica, solicitar su autorización escrita para la participación en un proyecto de investigación con título “Estudio clínico y de los mecanismos moleculares implicados en el desarrollo del linfoma folicular transformado”.

El proyecto será desarrollado en 44 hospitales de la red nacional pertenecientes al grupo GOTEL (Grupo Oncológico para el Tratamiento y Estudio de los Linfomas). El equipo investigador está formado por Oncólogos Médicos, siendo sus coordinadores el Dr. Provencio Pulla y la Dra. Margarita Sánchez-Beato Gómez pertenecientes al HU. Puerta de Hierro-Majadahonda (HUPHM). A nivel local en su centro hospitalario el médico responsable será el Dr. /Dra.....

Carácter altruista de la donación

La donación tiene por disposición legal carácter altruista, por lo que usted no obtendrá ni ahora ni en el futuro ningún beneficio económico por la misma. No está previsto compensarle por los productos que pudieran ser desarrollados a partir de esta investigación. Por lo tanto, usted renuncia a cualquier beneficio económico que pudiera corresponderle en el futuro y que sea renunciante.

Sin embargo, el estudio pudiera tener un beneficio para su persona o sus familiares y, en todo caso, los conocimientos obtenidos gracias a los estudios llevados a cabo a partir de su muestra y de muchas otras pueden aumentar el conocimiento médico y ayudar así a otras personas.

Asimismo, y para poder completar el presente proyecto de investigación, cabe la posibilidad de que sea necesario requerir nuevamente su consentimiento para realizarle una nueva extracción de tejido o sangre así como contactar nuevamente con usted para solicitarle nueva información adicional a la ya facilitada.

Protección de datos y confidencialidad

Los datos personales que se recojan sobre Usted, incluidos aquellos que se soliciten adicionalmente al hospital conforme a la necesidad de la investigación que nos ocupa y siempre bajo su autorización, serán confidenciales y procesados de acuerdo con la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y la legislación sanitaria y relativa a la investigación biomédica vigente, tratándose los mismos únicamente de acuerdo con los objetivos descritos en el presente proyecto de investigación. Asimismo, se informa que los resultados obtenidos con las muestras, pueden ser publicados en revistas científicas, sin embargo, serán datos totales y expresados de modo que nunca será revelada su identidad o datos que le identifiquen o puedan llegar a identificarle.

En el momento que usted consienta el uso de muestra para los fines de investigación aplicada descritos, dicha muestra será sometida a un proceso de disociación. Es decir, sólo será identificada por un número y/o un código y se mantendrá confidencial el fichero que relaciona dicho código con sus datos personales. Dado que se trata de un estudio cuyo resultado podría en un futuro tener interés para el paciente y/o de sus familiares, los investigadores principales mantendrán el acceso a sus datos personales, pero únicamente ellos, a través de un fichero confidencial.

Información sobre resultados del estudio

Los datos que se obtengan de los análisis de la muestra serán archivados, y formarán parte del estudio / proyecto de investigación, manteniéndose durante el desarrollo del mismo. Siempre podrá solicitarnos los resultados generales del Proyecto en el que Ud. participa.

Los métodos utilizados en este proyecto son parte de una investigación biomédica y son diferentes a los realizados en la práctica clínica habitual, por lo que puede no tener valor clínico para Ud. No obstante, le corresponde a Ud. decidir si quiere recibir o no dicha información, tanto en relación con su persona como con su familia. En el caso de que Ud. haya optado por no recibir dicha información y, según criterio del médico responsable, sea necesaria para evitar un grave perjuicio para su salud o la de sus familiares biológicos, se informará a un familiar próximo o a un representante, previa consulta del comité de ética asistencial. En todo caso, la comunicación se limitará exclusivamente a los datos necesarios para estas finalidades.

Si desea más Información sobre este estudio o sobre esta investigación, puede contactar con los Investigadores principales, Dr. Mariano Provencio Pulla o Dra. Margarita Sánchez-Beato Gómez, en el siguiente nº de teléfono: 911916095.

En su hospital, el investigador encargado de suministrarle la información que precisase será el Dr/Dra.....

Yo (nombre)....., con fecha de nacimiento....., AUTORIZO libre y voluntariamente a que una muestra del tejido del tumor obtenida durante el diagnóstico al que se me ha sometido y una muestra de tejido no tumoral proveniente de un enjuague bucal o excedente de una biopsia previamente realizada, sean utilizadas para análisis genético, así como los datos clínicos relevantes sobre la enfermedad, su pronóstico o sensibilidad a los tratamientos.

Fecha:

Firma del paciente

ANEXO: DONACIÓN DE MUESTRAS EXCEDENTE AL BIOBANCO DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DE HIERRO-MAJADAHONDA (HUPH-M)

El Biobanco HUPH-M es un departamento donde se conservan muestras biológicas (tejidos, ADN y otros derivados) con las adecuadas garantías de seguridad y confidencialidad, con el fin de utilizarlas en la investigación de las enfermedades y contribuir a la obtención de conocimientos para mejorar el tratamiento de los pacientes. El Biobanco HUPH-M cuenta con los medios necesarios para el procesamiento y la conservación de muestras biológicas

Conforme recoge la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica, de 3 de Julio de 2007, (LIB) y el Real Decreto (RD) 1716/2011 por el que se regula el funcionamiento de los Biobancos, se solicita su autorización escrita para la donación gratuita y el almacenamiento en el Biobanco HUPH-M, del sobrante/excedente de su/s muestra/s biológica/s así como los datos asociados a la misma, con el fin de utilizar dicho sobrante en investigación biomédica.

El Biobanco HUPH-M asegurará una adecuada conservación de las muestras biológicas y sus datos asociados. Su muestra será almacenada por un tiempo indefinido, durante el cual estará disponible para la realización de diferentes proyectos de investigación del propio centro o de otros centros que lo soliciten. Asimismo, la muestra podrá ser cedida a terceros asegurándose la confidencialidad de su información personal.

Su colaboración en esta donación es completamente voluntaria y altruista. Su participación tampoco supondrá ningún riesgo o molestia adicional ya que no se realizará ninguna prueba o intervención distinta de aquella en la que se obtiene la muestra, de tal manera que únicamente va a autorizar la investigación con muestras sobrantes. En cualquier caso usted podrá revocar en

cualquier momento su consentimiento solicitando la destrucción o anonimización de las muestras (destrucción del código que vincula la muestra con su identidad).

En el caso de que de las futuras investigaciones que se lleven a cabo se desprendiesen datos que pudieran ser tanto clínica como genéticamente relevantes para su salud o la de su familia, usted debe decidir si quiere recibir o no dicha información.

Nombre y apellidos.....

DNI.....

Edad.....

Persona del Centro que informa.....

Autorizo al Hospital Universitario Puerta de Hierro-Madahonda a que el material biológico sobrante de las pruebas que se han realizado o se me vayan a realizar como parte del actual proceso asistencias sea incorporado en el Biobanco HUPH-M.

AUTORIZACIÓN DE INFORMACIÓN

- Autorizo a que el excedente de muestra utilizado para el diagnóstico y la información clínica asociada se utilice para investigación en los términos anteriormente recogidos SI NO

- Autorizo que se me comunique la información importante para mi persona o la de mis familiares derivada de la investigación

Teléfono o mail de contacto..... SI NO

- Autorizo a ser contactado en el caso que se necesite más información para cualquier proyecto en el que se utilicen mis muestras

Teléfono o mail de contacto..... SI NO

- Autorizo a anonimizar y no destruir mi muestra en caso de revocación del presente consentimiento SI NO

FIRMA

En....., a.....de.....de 20.....

ANEXO V: GENES ESTUDIADOS

ABCA3	DDX3X	KLHL14	POU2F2
APC	DMXL1	KLHL6	PRDM1
ARID1A	EGFR	KMT2C	PRKCQ
ARID3B	EP300	KMT2D	PTEN
ATM	EPHA7	KRAS	RHOA
ATRX	ERBB2	LRP1B	SETD2
B2M	ERBB3	MEF2B	SF3B1
BCL10	ERBB4	MTOR	SGK1
BCL2	ETS1	MYB	SIGLEC10
BCL6	EZH2	MYC	SLC38A8
BCL7A	FANCD2	MYD88	SMARCA2
BCOR	FAS	NFKB2	SMARCA4
BIRC3	FAT2	NFKBIA	SOCS1
BRAF	FGFR1	NFKBIE	STAT3
BRCA2	FOXO1	NOTCH1	STAT6
BTG1	GNA13	NOTCH2	TGM7
CARD11	GRM5	NRAS	TMEM30A
CCND3	HIST1H1C	PAX5	TNFAIP3
CD58	HIST1H1E	PCLO	TNFRSF10A
CD70	HIST1H3B	PDE1C	TNFRSF11A
CD79B	ID3	PDGFRA	TNFRSF14
CDC25A	IDH1	PIK3CA	TP53
CDK3	IDH2	PIK3CD	TP73
CDKN2A	IKZF1	PIK3R1	TRAF3
CHRM5	IRF4	PIM1	UNC5D
CIITA	IRF8	PIM2	WHSC1
CREBBP	KDR	PLEKHG5	
CSMD3	KIT	POU2AF1	

14th International Conference on Malignant Lymphoma, Lugano 2015

Poster Presentations

199

Results: Median age at enrollment was 60 years (range 23–93) and 52% were male. The most common initial management approaches were observation ($n = 326$, 33%), rituximab monotherapy (RM, $n = 111$, 12%) and immunochemotherapy (IC, $n = 348$, 35%). At a median follow-up of 71 months (range 5–144), 83% achieved EFS12 and 130 patients (14%) died. At the time of initial diagnosis, FL patients had a modest decrease in OS compared to the age and sex matched general population (SMR = 1.14, 95% CI: 0.96–1.36, $p = 0.12$) with good outcome in patients managed with observation (SMR = 0.83, 95% CI: 0.60–1.14, $p = 0.24$) or RM (SMR = 0.64, 95% CI: 0.34–1.19, $p = 0.16$). Patients initially treated with IC had inferior survival (SMR = 1.83, 95% CI: 0.96–3.46, $p = 0.04$). Patients achieving EFS12 had excellent subsequent OS (SMR = 0.73, 95% CI: 0.57–0.94, $p = 0.014$) including those initially treated with IC (SMR = 0.73, 95% CI: 0.46–1.16, $p = 0.18$). Conversely, failing to achieve EFS12 was associated with poor OS (SMR = 3.72, 95% CI: 3.70–13.4, $p = 2.3 \times 10^{-11}$), most strongly in IC-treated patients (SMR = 17.63, 95% CI: 12.4–25.3, $p = 1.9 \times 10^{-17}$). Results replicated in the Lyon cohort with FL patients achieving EFS12 having subsequent SMR = 1.02, 95% CI: 0.62–1.66, $p = 0.95$ and FL patients failing to achieve EFS12 having subsequent SMR = 8.74, 95% CI: 5.70–13.4, $p = 2.9 \times 10^{-10}$.

Conclusions: Prognostic reassessment at 12 months post-diagnosis further defines those who are event free to have excellent prognosis, independent of initial prognostic indices or management. EFS12 has important implications for clinical practice, patient counselling and predicting long-term clinical trial outcome at an early time point after diagnosis.

189 FOLLICULAR LYMPHOMA AND CLINICAL CHARACTERISTICS OF HISTOLOGIC TRANSFORMATION

M. Méndez¹, F. Franco Pérez¹, V. Calvo¹, M. Provencio¹, M. Cruz Mora², D. Aguilar Bujanda³, J. Laventia⁴, P. Sabido⁵, M. Llorens⁶, C. Quera Blanco⁷, J. Gómez Ordina⁸, J. Gámez⁹, D. Rodríguez-Alonso¹⁰, L. De la Cruz¹¹, F. García-Arroyo¹², N. Martínez¹³, A. López-González¹⁴, J. Sánchez¹⁵, A. Ruacho¹⁶

¹ Medical Oncology, Hospital Universitario Puerta de Hierro, Majadahonda, Madrid, Spain; ² Medical Oncology, Hospital Virgen de la Salud, Toledo, Spain; ³ Medical Oncology, Hospital Doctor Negrín, Las Palmas de Gran Canaria, Spain; ⁴ Medical Oncology, Instituto Valenciano de Oncología, Valencia, Spain; ⁵ Medical Oncology, Hospital Gregorio Marañón, Madrid, Spain; ⁶ Medical Oncology, Hospital Universitario de Canarias, Tenerife, Spain; ⁷ Medical Oncology, Hospital Virgen de la Victoria, Málaga, Spain; ⁸ Medical Oncology, Hospital de la Fe, Valencia, Spain; ⁹ Medical Oncology, Hospital Universitario San Juan de Dios, IESPV, Universidad Rosario i Virgili, Reus, Spain; ¹⁰ Medical Oncology, Hospital Universitario Insular de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, Spain; ¹¹ Medical Oncology, Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla, Spain; ¹² Medical Oncology, Complejo Hospitalario de Pontevedra, Pontevedra, Spain; ¹³ Medical Oncology, Hospital General Universitario de Elche, Alicante, Spain; ¹⁴ Medical Oncology, Complejo Asistencial Universitario de León, León, Spain; ¹⁵ Pathology, Departamento de Patología, Facultad de Medicina, UNAM, Monterrey, Mexico; ¹⁶ Medical Oncology, Hospital Comarcal del Sol, Morbella, Spain.

Background and objectives: Histologic transformation (HT) of follicular lymphoma (FL) is possible during the natural course of the tumour. HT rates vary in published series between 10% and 40%, probably due to methodological differences between reports, disparities within study populations, inconsistent HT definitions and varying diagnostic methods. The purpose of this study is to register the frequency of HT in the more aggressive lymphomas in the large series of patients with follicular lymphomas treated by the Spanish Lymphoma Oncology Group (GOTEL).

Materials and methods: Clinical characteristics of a large number of patients obtained prospectively were analysed to identify significant prognostic and therapeutic features. Data such as age, sex, stage of the disease (Ann Arbor), histologic grade, B symptoms, number of affected lymphatic chains, number of extralymphatic sites affected, bone marrow infiltration, performance status, presence of bulky disease and detection of hepatitis C virus as well as lactate dehydrogenase, β_2 microglobulin, albumin and standard blood tests were obtained upon diagnosis. International prognostic indexes (IPI) and FLIPI (prior primer primer qué significa y la sigla en paréntesis) for FL were also recorded. Comparisons were established using a chi square.

Results: The study population included 1076 patients with a diagnosis of FL and a median follow-up of 54 months. The incidence of HT in our series was 3%, seen mainly in patients with diffuse large-cell B lymphoma. Median follow up was 54 months (range 0–678) in the general series and 58 (range 2–418) in the HT cohort ($p = 0.37$). Multiple clinical characteristics were analysed to determine their HT prediction value but were not significant. In terms of treatment modality, neither receiving anthracyclines nor observing influenced subsequent transformation. Twenty-three per cent of the general population has died during follow-up, whereas patients in the HT group have had a mortality rate of 49% ($p = 0.002$).

Conclusions: In our series, the incidence of HT is 3%. In our experience clinical factors or the type of treatment do not influence later histological transformation.

190 RISK INCIDENCE OF FOLLICULAR LYMPHOMA TRANSFORMATION: MULTICENTRE RETROSPECTIVE ANALYSIS OF THE SPANISH GELTAMO GROUP

S. Alonso Álvarez^{1a}, M. Alcoceba^{1a}, L. Maguano^{2a}, M. García Álvarez¹, M. M. Andrade³, G. Rodríguez⁴, F. García-Panarola⁵, A. Solís⁶, M. Tenó⁶, E. Vega⁷, C. Grande⁸, E. Pardo⁹, A. Martín¹, A. López-Chalorro¹⁰, M. Caballero¹¹

^{1a} Department of Hematology, University Hospital of Salamanca, Salamanca, Spain; ^{2a} Department of Hematology, Clinic Hospital, Barcelona, Spain; ¹ Department of Hematology, University Hospital Miguel Servet, Zaragoza, Spain; ⁴ Department of Hematology, University Hospital Virgen del Rocío, Sevilla, Spain; ⁵ Department of Hematology, Hospital del Mar, Barcelona, Spain; ⁶ Department of Hematology, Clinic Hospital of Valencia, Valencia, Spain; ⁷ Department of Hematology, University Hospital 12 de Octubre, Madrid, Spain; ⁸ Department of Hematology, Hospital Virgen del Puerto, Plasencia, Spain.

Introduction: Follicular lymphoma (FL) may, over time, transform into an aggressive lymphoma, usually diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). Transformed follicular lymphomas (tFL) have a worse prognosis due to poorer response to treatment than primary DLBCL. The incidence of transformation is estimated in ~3% per year, although it varies largely between different studies (24–70% overall). These differences are mainly due to different criteria to define tFL, lack of evidence of tFL by biopsy, absence of clonality studies discarding secondary de novo NHL, studies performed in the pre-Rituximab era or different follow-up times among studies. With all this pitfalls, the actual incidence of transformation remains an open question. The aim of the present study is to analyse the incidence and prognostic impact of transformation in patients with FL in a large retrospective series of the Spanish group of Lymphomas (GELTAMO).

Patients and methods: A total of 1090 patients (grades I, II and IIIa) from 8 Spanish centres diagnosed of FL between 2000 and 2010 were included in the study. Data were obtained from the database of centres willing to participate in this study. True tFL (FL to DLBCL) were recorded. Composite FL + DLBCL, discordant tFL (FL in bone marrow and DLBCL in adenopathy or vice versa) and downgrading tFL (DLBCL at diagnosis and relapse of FL) were excluded from the preliminary analysis. This study was approved by the Salamanca University Hospital ethics committee.

Results: Seventy-one patients (median follow-up of 6 years) were transformed to DLBCL (6.5%). Cumulative incidence of transformation at 5, 10 and 15 years was of 5%, 8% and 14%, respectively. Median time to transformation was 30 months, ranged 3–150. Considering survival from diagnosis of FL, tFL patients had a shorter OS than non-transformed (20% vs 68%, $p < 0.0001$). Most of the tFL patients (92%) have previously received treatment for FL, 56% of them with rituximab. Median number of treatment lines before transformation was 2 (1–6). Patients receiving rituximab as first-line therapy showed decreased time to transformation at 15 years (10% vs 19%, $p = 0.025$). Other factors influencing risk of tFL included no response to first-line therapy, age at diagnosis > 60 years, FLIPI and Ann Arbor stage. Consolidation therapy with autologous transplant for tFL showed an increase in OS (67% vs 8%, $p = 0.001$). However, these results should be confirmed in prospective studies.

Conclusions: High-risk FLIPI, Ann Arbor stages III–IV, age > 60 years, no use of Rituximab in first-line therapy and response to first line have shown to predispose to a higher risk of transformation. Autologous transplantation could have a benefit

The European Cancer Congress 2015



Abstract Search - European Cancer Congress 2015

Planning your programme? Go to the Searchable Programme

[BACK TO MY SEARCH RESULTS](#)

Session title: Haematological Malignancies

Session type: Poster Session

Track: Haematological Malignancies

Abstract number: 3211

Abstract title: Follicular lymphoma and clinical characteristics of histologic transformation

M. Méndez García⁽¹⁾, F. Franco Pérez⁽¹⁾, V. Calvo De Juan⁽¹⁾, M. Provencio⁽¹⁾, M.A. Cruz Mora⁽²⁾, D. Aguiar Bajanda⁽³⁾, J. Lavernio⁽⁴⁾, P. Sabín⁽⁵⁾, M. Llanos⁽⁶⁾, C. Quero Blanco⁽⁷⁾, J. Gómez Codina⁽⁸⁾, J. Guma⁽⁹⁾, D. Rodríguez-Silvestre⁽¹⁰⁾, L. De La Cruz Marín⁽¹¹⁾, F. García Arroyo⁽¹²⁾, N. Martín⁽¹³⁾, J. López-gonzález⁽¹⁴⁾, J.J. Sánchez⁽¹⁵⁾, A. Rueda⁽¹⁶⁾

⁽¹⁾Hospital Puerta De Hierro, Medical Oncology, Madrid, Spain

⁽²⁾Hospital Virgen De La Salud, Medical Oncology, Toledo, Spain

⁽³⁾Hospital Dr Negrín, Medical Oncology, Las Palmas De Gran Canarias, Spain

⁽⁴⁾Iryo, Medical Oncology, Valencia, Spain

⁽⁵⁾Hospital Gregorio Marañón, Medical Oncology, Madrid, Spain

⁽⁶⁾Hospital Universitario De Gran Canarias, Medical Oncology, Tenerife, Spain

⁽⁷⁾Hospital Virgen De La Victoria, Medical Oncology, Málaga, Spain

⁽⁸⁾Hospital La Fe, Medical Oncology, Valencia, Spain

⁽⁹⁾Hospital Universitari Sant Joan De Reus, Medical Oncology, Reus, Spain

⁽¹⁰⁾Hospital Insular De Gran Canarias, Medical Oncology, Las Palmas De Gran Canarias, Spain

⁽¹¹⁾Hospital Universitario Virgen De La Macarena, Medical Oncology, Sevilla, Spain

⁽¹²⁾Complejo Hospitalario De Pontevedra, Medical Oncology, Pontevedra, Spain

⁽¹³⁾Hospital Universitario General De Elche, Medical Oncology, Alicante, Spain

⁽¹⁴⁾Complejo Asistencial Universitario De León, Medical Oncology, León, Spain

⁽¹⁵⁾Departamento De Patología Facultad De Medicina Unam Monterrey, Patology, Monterrey, Mexico

⁽¹⁶⁾Hospital Costa Del Sol De Marbella, Medical Oncology, Marbella, Spain

Background and Objectives: Histologic transformation (HT) of follicular lymphoma (FL) is possible during the natural course of the tumor. HT rates vary in published series between 10 to 60%, probably due to methodological differences between reports; disparities within study populations, inconsistent HT definitions and varying diagnostic methods. The purpose of this study is to register the frequency of HT in the more aggressive lymphomas in the large series of patients with follicular lymphomas treated by the Spanish Lymphoma Oncology Group (GOTEL).

Materials and Methods: Clinical characteristics of a large number of patients obtained prospectively were analyzed to identify significant prognostic or therapeutic features. Data such as age, sex, stage of the disease (Ann Arbor), histologic grade, B symptoms, number of affected lymphatic chains, number of extralymphatic sites affected, bone marrow infiltration, performance status, presence of bulky disease, detection of hepatitis C virus as well lactate dehydrogenase, β_2 microglobulin, albumin and standard blood tests were obtained upon diagnosis. International prognostic indexes (IPI) and FLIPI (poner primero qué significa y la sigla en parenthesis) for FL were also recorded. Comparisons were established using a Chi-square.

Results: The study population included 1076 patients with a diagnosis of FL and a median follow-up of 54 months. The incidence of HT in our series was 3%, seen mainly in patients with diffuse large-cell B lymphoma. Median follow up was 54 months (range 0,1-678) in the general series and 58 (range 2-418) in the HT cohort ($p=0.37$). Multiple clinical characteristics were analyzed to determine their HT prediction value but were not significant. In terms of treatment modality, neither receiving anthracyclines nor observation influenced subsequent transformation. Twenty-three percent of the general population has died during follow up whereas patients in the HT group have had a mortality rate of 49% ($p=0.002$).

Conclusions: In our series, the incidence of HT is 3%. In our experience clinical factors or the type of treatment do not influence later histological transformation.

No conflict of interest.

